

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg an der Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H.C. Friederich

Biochemische und Physiologische Parameter der Hautoberfläche als prädisponierende Faktoren für Hautinfektionen bei Diabetes Mellitus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Volker Marckardt
aus Gera

Marburg/Lahn 1975

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg an der Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H.C. Friederich

**Biochemische und Physiologische Parameter
der Hautoberfläche
als prädisponierende Faktoren
für Hautinfektionen bei Diabetes Mellitus**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg**

**vorgelegt von
Volker Marckardt
aus Gera**

Marburg/Lahn 1975



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am: 21.11.1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. H.C. Friederich

Correferent: Prof. Dr. H. Bernhardt

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	5
2. Material und Methodik	12
2.1 Untersuchte Kollektive	12
2.1.1 MED (eingestellte Diabetiker)	12
2.1.2 MED-VK (Vergleichskollektiv zu MED)	12
2.1.3 NED (nicht eingestellte Diabetiker)	13
2.1.4 NED-VK (Vergleichskollektiv zu NED)	13
2.2 Untersuchungsmethoden	15
2.2.0 Vorbemerkungen	18
2.2.1 Extraktion und Analysen der Haut- oberflächenlipide	18
2.2.1.1 Extraktion der Gesamtlipide	18
2.2.1.2 Gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächen-Gesamtlipide	20
2.2.1.3 Dünnschichtchromatographische Analyse	22
2.2.2 Extraktion und Analysen des sogenannten Wasserlöslichen	31
2.2.2.0 Vorbemerkungen	31
2.2.2.1 Extraktion des Wasserlöslichen	33
2.2.2.2 Korrektur- und Umrechnungsfaktoren	34
2.2.2.3 Analyse m.d. Phenol-Schwefelsäure-Methode	38
2.2.2.4 Analyse m. d. Ferricyanid-Methode	43
2.2.2.5 Analyse m. d. Ninhydrin-Methode	48
2.2.2.6 Bestimmung der Milchsäure	54
2.2.2.7 Bestimmung des Glyzerins	60
2.2.2.8 Quantitative Analyse der Aminosäuren	64
2.2.3 Alkalineutralisationskapazität der Haut	66
2.2.4 Bestimmung der Alkaliresistenz der Haut	68
2.2.5 Bestimmung der Benetzbarkeit mit wäßrigen Lösungen (Spreitung)	70
2.2.6 Thermometrische Untersuchungen der Haut	72

2.3 Statistische Auswertungsmethoden	77
3. Methodische Erfahrungen und Kritik der Methoden	78
4. Ergebnisse	80
4.1 Einzelergebnisse	80
4.2 Auswertung der Einzelergebnisse	99
5. Diskussion	101
6. Zusammenfassung	114
7. Literaturverzeichnis	116
8. Anhang	138
9. Lebenslauf und akademische Lehrer	143

1. Einleitung

Die dermatologischen Komplikationen des Diabetes mellitus sind seit langem bekannt und Gegenstand zahlreicher Untersuchungen in der Literatur. Neben den überwiegend pathophysiologisch bedingten Erscheinungen an der Haut, wie Pruritus, Rubeosis, Purpura, Austrocknen der Hautoberfläche, vermehrtes Schwitzen, Angiopathien, Mikroangiopathien und Neuropathien wird übereinstimmend beschrieben, daß Diabetiker besonders häufig an bestimmten Infektionen der Haut, vor allem an Mykosen und staphylogenen Pyodermien erkranken (12, 69, 74, 83, 84, 92, 95, 110, 113, 117, 122, 123, 129, 148, 166, 171, 172, 173, 175, 176, 177, 179, 183).

Bei diesen Infektionen scheinen Dauer der diabetischen Stoffwechsellage und Grad der medikamentösen Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels keine deutliche Rolle zu spielen, denn sie treten beim manifesten wie beim latenten Diabetes mellitus gleichermaßen gehäuft auf (83, 95). Ein erfahrener Dermatologe wird bei derartigen Infektionen, besonders bei solchen, die zum wiederholten Male oder bei älteren Patienten auftreten und nur langsam oder gar nicht auf die Therapie ansprechen, routinemäßig die Differentialdiagnose Diabetes mellitus abklären. Hier hat die Dermatologie eine wichtige Aufgabe in der Früherkennung innerer Erkrankungen.

Seit langem werden auch die unterschiedlichsten Ursachen für diese erhöhte Disposition der Diabetiker für Hautinfektionen in Betracht gezogen. Neben äußeren schädlichen Einwirkungen wie Kratzen bei dem bekannten Pruritus, Mazerationen durch die sich zersetzenden 'zuckerhaltigen' Exkrete wurde auch eine Veränderung der Hautbakterienflora verantwortlich gemacht, auf deren vorbereitenden Hautveränderungen sich Mykosen und Pyodermien leichter ausbreiten könnten.

Besonders nachdrücklich hielt sich - durch die Mykosen bedingt - der Verdacht auf eine erhöhte Hautfeuchtigkeit und einen erhöhten 'Hautzucker'.

Die erhöhte Hautfeuchtigkeit konnte bisher nicht definitiv nachgewiesen werden. Einerseits ist bekannt, daß Diabetiker häufig zu vermehrtem Schwitzen neigen, andererseits wurde auch eine besonders spröde Haut und ein starkes Austrocknen des Stratum corneum beobachtet. Besonders von letzterem wird angenommen, daß es Ursache oder Mitursache der verschiedenen Hautaffektionen, speziell des gut bekannten Pruritus sein könnte (183).

Besonders verbreitet ist die Auffassung, daß ein erhöhter Hautzucker für die Praedisposition des Diabetikers für bestimmte Hautinfektionen verantwortlich zu machen sei, zumal durch Versuche in vitro nachgewiesen wurde, daß die am häufigsten beobachteten Erreger diabetischer Hautinfektionen, nämlich Staphylokokken und Hefepilze ein Wachstums-optimum auf Nährböden mit einem Glukosegehalt von 150-200 mg% zeigen (39, 70). Leider waren bis heute alle Versuche, einen brauchbaren Hautglukosetest zu entwickeln unbefriedigend. Die zunächst sehr erfolgversprechenden Arbeiten von MILLER und RIDOLFO (108) konnten von TILLING (167) nicht bestätigt werden.

Der naheliegende Verdacht, eine erhöhte Hautoberflächen-temperatur könne die Hautinfektionen bei Diabetikern ätiologisch begünstigen, ist in der Literatur bisher nicht konkret ausgesprochen worden, obwohl seit langem bekannt ist, daß Hefepilze und Staphylokokken - nicht nur in vitro - optimale Wachstumsbedingungen bei höheren Temperaturen finden, als auf der Hautoberfläche gewöhnlich nachzuweisen sind.

Nun können die vorgenannten Faktoren sicher nicht isoliert voneinander gesehen werden, wenn man die Haut als Organ, mithin als funktionelle Einheit hinsichtlich ihres Stoffwechsels betrachtet. Darüber hinaus darf man nicht außer Acht lassen, daß die diabetischen Stoffwechselveränderungen ein allgemeines pathophysiologisches Moment darstellen, dessen Auswirkungen sich letzten Endes an jedem Organ und an jeder Zelle manifestieren werden.

Grundsätzlich kann eine erhöhte Disposition der Haut für Infektionen entweder durch eine Verminderung der aktiven Abwehrfunktionen und der passiven Barrierewirkung von Epidermis und Corium oder als eine Milieubegünstigung der Erreger oder als Folge dieser auch gleichzeitig bestehenden Ursachen gesehen werden. Da man ferner die meßbaren Größen einer so komplexen funktionellen Einheit wie der Haut eher als Parameter, d.h. als b e d i n g t e, sowohl veränderliche als auch konstante Größen betrachten muß, erscheint es sinnvoll und notwendig, einen Ursachenkomplex für die erhöhte Infektdisposition des Diabetikers anzunehmen und die Gesamtheit der Hautfunktionen im labilen Gleichgewicht zwischen Resistenz und Praedisposition zu überprüfen.

Es muß also im biochemisch erfaßbaren Bereich nach Veränderungen im Stoffwechsel der Haut, nämlich im Fett-, Kohlehydrat- und Eiweiß-Stoffwechsel gesucht werden, sowie nach Veränderungen im physiologisch erfaßbaren Bereich, wobei insbesondere milieubedingende Veränderungen der Wasserstoffionen-Konzentration bzw. des pH-Wertes, der Hautfeuchtigkeit, der Benetzbarkeit der Hautoberfläche bezüglich wäßriger Lösungen sowie der Hautoberflächentemperatur beachtet werden sollten.

Bei der Beurteilung des Hautstoffwechsels aus den Oberflächensubstanzen ist deren unterschiedliche Herkunft zu berücksichtigen. Die Substanzen können zum einen aus dem Stoffwechsel der Epidermisschichten oder des Coriums stammen, zum anderen auch aus dem Stoffwechsel der Hautanhangsgebilde, vorwiegend als Sekret der verschiedenartigen Talg- und Schweißdrüsen, zum dritten aber auch - durch Diffusion - aus den Blut- und Lymphgefäßen bzw. aus den lymphgefüllten Interzellularspalten des Stratum spinosum und der übrigen Papillenbereiche. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Talg- und Schweißdrüsen zwar entwicklungsgeschichtlich der Epidermis entstammen, jedoch im Corium liegen und hinsichtlich ihres Stoffwechsels nicht direkt zur Epidermis gerechnet werden können.

Der epidermale Fettstoffwechsel ist darum insofern nur schwierig zu erfassen, als die Hautoberflächenlipide ein Gemisch aus den Lipiden der Epidermis und der im Corium liegenden Talgdrüsen sind (50, 64, 65, 116). Der epidermale Fettstoffwechsel kann allenfalls durch Rückschlüsse aus dem Anteil freier Cholesterine beurteilt werden, da diese Fraktion der Hautoberflächenlipide nahezu ausschließlich von den epidermalen Lipiden gestellt wird. Triglyzeride hingegen und freie Fettsäuren sind wesentliche Bestandteile im Stoffwechsel sowohl der Talgdrüsen als auch der Epidermis, während die Squalene und mehr noch die Wachsester überwiegend auf den Stoffwechsel der Talgdrüsen zurückzuführen sind. Bei den Paraffinen ist es allerdings fraglich, ob sie überhaupt Produkte des Stoffwechsels sind. Aber selbst dann wäre zu beachten, daß bei der hier beschriebenen Extraktions- und Untersuchungsmethode ein Teil der nachgewiesenen Paraffinfraktion durch Lösungsmittelverunreinigungen zustande kommen, ein anderer beträchtlicher Teil der Hautoberflächenparaffine exogenen Ursprungs sein kann (53, 81).

Als Abbauprodukt des Fettstoffwechsels ist auch das im wäßrigen Eluat der Hautoberfläche vorkommende Glycerin zu beachten, das nicht zu den kohlenwasserstofflöslichen Lipiden zählt.

Anders als beim Fettstoffwechsel lassen sich aus den End- und Zwischenprodukten des Kohlehydrat-Stoffwechsels unmittelbar Rückschlüsse auf die biochemischen Prozesse in der Epidermis ziehen, obwohl hier die Sekrete der im Corium liegenden ekkrinen (und apokrinen) Schweißdrüsen eine Rolle spielen (25, 26, 99, 117).

Kohlehydrate kommen in der Epidermis meist in eiweißgebundener Form bzw. als Komplexverbindungen zwischen Aminosäuren und Hexosen oder Pentosen vor (40, 41, 106, 118, 119, 157, 165). In ungebundener Form sind Kohlehydrate - wenn überhaupt - nur in relativ unbedeutender Menge in der Epidermis nachzuweisen (76, 77, 78, 79, 118, 119, 157, 165).

Der Abbau der Kohlehydrate in der Epidermis erfolgt überwiegend anaerob mit dem Endprodukt Milchsäure (40, 41, 78, 106, 154, 156, 157). In geringerem Maße kommen daneben die Zwischenprodukte des Kohlehydratstoffwechsels vor, aus dem Zitronensäurezyklus z.B. die Zitronensäure (79, 154, 155, 156, 157).

Als dritte Hauptgruppe im biochemisch erfaßbaren Bereich können die Produkte des Eiweiß- bzw. Aminosäuren-Metabolismus Anhaltspunkte für die Suche nach praedisponierenden Faktoren sein.

Bisher war man der Ansicht, in erster Linie enthielten die Aminosäuren diejenigen sauren Valenzen, die wesentlich für die Entstehung und Erhaltung des sogenannten 'Säuremantels' der Haut seien (78, 79, 153, 154, 155, 156, 164), und daß dieser Säuremantel eine wichtige Funktion in der Abwehr der Haut gegen Infektionen habe, weil er ein für Bakterien und Pilze ungünstiges pH-Milieu darstellen, also bakteriostatisch wirken soll (98, 99). Neuere Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß für die Aufrechterhaltung des physiologisch normalen pH-Milieus eher Kohlensäure verantwortlich zu machen ist, und daß die Aminosäuren und die Milchsäure nur im stark alkalischen Hautoberflächenmilieu, wie es bei der Alkaliresistenz- und Alkalineutralisationszeit-Bestimmung geschaffen wird, eine wesentliche Rolle spielen (160).

Entscheidend ist jedoch nicht nur die aktuelle Wasserstoff-Ionen-Konzentration. Da die Oberflächensubstanzen der Haut mehr oder weniger regelmäßig abgewaschen bzw. auch anderweitig abgetragen werden, ist auch die potentiell mobilisierbare Menge an Wasserstoff-Ionen und ihre Möglichkeit, an die Hautoberfläche zu gelangen, von großer Bedeutung. In einer feuchteren Haut, in der das Stratum corneum stärker aufgequollen ist, lassen sich die sauren Valenzen leichter mobilisieren. Der Quellungszustand des Stratum corneum ist wahrscheinlich mit abhängig von der Menge der wasserbindenden Substanzen im Stratum corneum (144). Eine direkte Korrelation zwischen der Menge der Hautoberflächen-

lipide z. B. und der der Aminosäuren auf der Haut konnte allerdings bisher nicht nachgewiesen werden.

Zu den epidermalen Funktionsprüfungen, die diesen komplexen Zusammenhang zwischen Aminosäuren- bzw. Wasserstoff-Ionen-Konzentration, Quellungszustand des Stratum corneum, Feuchtigkeit der Hautoberfläche, wasserbindenden Substanzen im Stratum corneum und Mobilisierbarkeit der sauren Valenzen auf der Hautoberfläche untersuchen, gehören die Bestimmungen der Alkaliresistenz, der Alkalineutralisationszeit und der Benetzbarkeit der Haut für wäßrige Lösungen (Spreitung).

Während die Prüfung der Alkalineutralisationszeit über die Mobilisierbarkeit der sauren Valenzen indirekt Aussagen zum Quellungszustand des Stratum corneum erlaubt, wird mit der Prüfung der Alkaliresistenz die aktive Reaktion der lebenden Epidermis und der unteren Schichten des Stratum corneum untersucht. Diese Reaktion ist auch für die Beurteilung der Abwehr der Haut von Wichtigkeit, da durch eine verminderte Barrierefunktion des Stratum corneum die Sensibilisierung der Haut stark begünstigt wird (51, 55). Es liegt nahe, auch Zusammenhänge zwischen dieser verminderten Barrierefunktion und der Häufigkeit von Pyodermien anzunehmen.

Die Messung der Benetzbarkeit der Haut durch wäßrige Lösungen (Spreitung) ist eine weitere Funktionsprüfung. Die Spreitung korreliert mit dem Gehalt der Hautoberflächenlipide an freien Fettsäuren (56). Daraus ergibt sich deren große Bedeutung für die Physiologie des Stratum corneum. Einerseits besteht hier wiederum eine Beziehung zum Quellungszustand des Stratum corneum, andererseits spielt die Spreitung eine wesentliche Rolle sowohl bei der homogenen Verteilung der von der lebenden Epidermis und ihren Anhangsgebilden im Corium sezernierten Feuchtigkeit als auch bei der Resorption wasserlöslicher Substanzen durch das Stratum corneum.

Schließlich kommt hinsichtlich der Praedisposition der Haut für Infektionen der Temperatur und dem reaktiven Verhalten der Haut thermischen Veränderungen gegenüber eine bedeuten-

de Rolle zu. Darüber ist sehr wenig bekannt, was deshalb bemerkenswert ist, weil eine ungewöhnlich umfangreiche Literatur zur diabetischen Mikroangiopathie und Neuropathie vorliegt. In jüngerer Zeit haben allerdings auch die dadurch bedingten Veränderungen der Mikrozirkulation zunehmend Interesse gefunden.

Um die komplexen Beziehungen der verschiedenen Faktoren in den oberen Hautschichten hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Funktion des Stratum corneum im Gleichgewicht zwischen Resistenz und Praedisposition mit möglichst grosser Sicherheit zu erfassen, wurde bei den vorliegenden Untersuchungen angestrebt, möglichst durch Funktionsprüfungen ein breites Spektrum biochemisch und physiologisch erfaßbarer Parameter bei getrennten Kollektiven von medikamentös noch nicht eingestellten Diabetikern und solchen zu erlangen, deren Kohlehydratstoffwechsel längere Zeit hindurch bereits medikamentös eingestellt war, sowie bei jeweils gleich großen, weitestgehend parallelisierten Vergleichskollektiven ohne diabetischen Befund.

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1 Untersuchte Kollektive

2.1.1 Kollektiv MED

Kollektiv der seit längerem bekannten und medikamentös eingestellten Diabetiker

Dieses Kollektiv bestand aus 26 Versuchspersonen, davon 6 männlichen und 20 weiblichen Geschlechts im Alter von 54 bis 81 Jahren. Das durchschnittliche Alter betrug bei einer fast linear über den gesamten Altersbereich verlaufenden Verteilung 65,0 Jahre, wobei die Geschlechtsverteilung über den Altersbereich praktisch gleichmäßig war.

Die durchschnittliche bekannte Krankheitsdauer war 10,0 Jahre mit einer Standardabweichung von 6,0 Jahren. 14 Versuchspersonen waren mit Insulin und 12 Versuchspersonen mit verschiedenen oralen Antidiabetika behandelt.

Der letzte, enzymatisch bestimmte Nüchtern-Blutzuckerwert durfte nicht älter als 2 Wochen sein und betrug im Kollektiv-Durchschnitt 168 mg% bei einer Standardabweichung von 50 mg%.

2.1.2 Kollektiv MED-VK

Vergleichskollektiv zum Kollektiv MED

Dieses Kollektiv aus 26 Versuchspersonen wurde bezüglich Alter und Geschlecht dem Kollektiv MED parallelisiert: zu jedem Probanden aus dem Kollektiv MED wurde eine Versuchsperson gleichen Alters und gleichen Geschlechts ausgewählt, bei der mit Sicherheit kein Diabetes mellitus vorlag. Die Altersabweichung bei den einander entsprechenden Einzelpersonen war maximal ± 13 Monate, im Durchschnitt 2,4 Monate.

Der Altersdurchschnitt dieses Kollektivs lag bei 65,2 Jahren.

Bei allen Versuchspersonen dieses Kollektivs wurde - soweit er nicht in den letzten 3 Monaten anderweitig kontrolliert worden war - der Wert des Nüchternblutzuckers enzymatisch bestimmt. Dieser durfte nicht höher sein als 90 mg% und lag im Kollektivdurchschnitt bei 75 mg% bei einer Standardabweichung von 9,5 mg%.

2.1.3 Kollektiv NED

Kollektiv der neu erkannten, medikamentös n i c h t eingestellten Diabetiker

Dieses Kollektiv bestand aus 16 Versuchspersonen, davon 4 männlichen und 12 weiblichen Geschlechts im Alter von 53 bis 81 Jahren. Das durchschnittliche Alter betrug bei einer fast linear über den gesamten Altersbereich verlaufenden Verteilung 64,8 Jahre, wobei die Geschlechtsverteilung über den Altersbereich praktisch gleichmäßig war.

Es wurden nur Versuchspersonen in dieses Kollektiv aufgenommen, die einen kürzlich diagnostizierten, medikamentös nicht bzw. noch nicht behandelten Diabetes mellitus und dabei enzymatisch bestimmte Nüchternblutzucker-Werte über 150 mg% aufwiesen, wobei der NBZ-Wert im Kollektivdurchschnitt bei 215 mg% mit einer Standardabweichung von 53 mg% lag.

Um das Kollektiv ausreichend groß werden zu lassen, konnte allerdings auf Versuchspersonen nicht verzichtet werden, denen klinischerseits eine vorläufige Kohlehydrat-Diät (1200 kcal/die) verordnet werden mußte.

2.1.4. Kollektiv NED-VK

Vergleichskollektiv zum Kollektiv NED

Dieses Kollektiv aus 16 Versuchspersonen wurde hinsichtlich Alter und Geschlecht dem Kollektiv NED

parallelisiert: zu jedem Probanden aus dem Kollektiv NED wurde eine Versuchsperson gleichen Alters und gleichen Geschlechts ausgewählt, bei der mit Sicherheit kein Diabetes mellitus vorlag.

10 Versuchspersonen dieses Kollektivs und deren Meßwerte waren mit Versuchspersonen des Kollektivs MED-VK und deren Meßwerten identisch.

Die Altersabweichung zwischen den Einzelpersonen dieses Kollektivs und den entsprechenden Personen im Kollektiv NED betrug maximal ± 13 Monate, im Durchschnitt $2,4$ Monate. Der Altersdurchschnitt lag bei $64,6$ Jahren.

Bei allen Versuchspersonen dieses Kollektivs wurde - soweit er nicht in den letzten 3 Monaten anderweitig kontrolliert worden war - der Wert des Nüchternblutzuckers enzymatisch bestimmt. Dieser durfte nicht höher sein als $90 \text{ mg\%}$ und lag im Kollektivdurchschnitt bei $74 \text{ mg\%}$ bei einer Standardabweichung von $10,7 \text{ mg\%}$.

Sämtliche Versuchspersonen aller Kollektive waren frei von Veränderungen der großen arteriellen Gefäße, soweit sie anamnestisch, aus den vorliegenden Krankengeschichten oder bei der Inspektion der Versuchspersonen ersichtlich gewesen wären.

Bei allen Versuchspersonen wurde darauf geachtet, daß sie - außer chronisch venöser Insuffizienz der unteren Extremitäten - keinerlei Hautbefunde zeigten. Es wurden ferner alle erreichbaren Krankengeschichten dieser Personen daraufhin geprüft, daß möglichst keine weiteren Haut- oder Stoffwechselkrankheiten vorlagen oder in den letzten 5 Jahren vorgelegen hatten, die möglicherweise einen Einfluß auf Menge oder Zusammensetzung der Hautoberflächensubstanzen haben könnten.

Zwei der Versuchspersonen des Kollektivs MED wurden allerdings zur Zeit der hier beschriebenen Untersuchungen mit

Cumarin (Marcumar) behandelt. Im zugehörnden Vergleichskollektiv MED-VK befanden sich unbeabsichtigt ebenfalls zwei Probanden, die mit Marcumar behandelt wurden, sie entsprachen jedoch weder hinsichtlich Alter noch Geschlecht den jeweiligen Versuchspersonen im Kollektiv MED.

Die beiden Diabetiker-Kollektive MED und NED entsprachen sich bezüglich ihrer Alters- und Geschlechtszusammensetzung absichtlich so weitgehend, daß auch zwischen ihnen ein statistischer Vergleich möglich war.

Sämtliche Versuchspersonen aller Kollektive hatten mindestens 3 Tage vor der Untersuchung jede Reinigung der Haut im Bereich der Versuchsstellen zu unterlassen. Probanden, die auf zunächst beiläufige und später eindringliche Befragung zugaben, sich auch nur versehentlich mit klarem Wasser benetzt zu haben, wurden sicherheitshalber aus den hier untersuchten Kollektiven herausgelassen.

Kosmetische und dermatologische Externa hatten alle Versuchspersonen seit längerer Zeit nicht verwendet.

Alle Untersuchungen wurden so vorgenommen, daß klimatische und jahreszeitlich bedingte Einflüsse als Ursache von möglichen Unterschieden weitestgehend ausschieden.

2.2 Untersuchungsmethoden

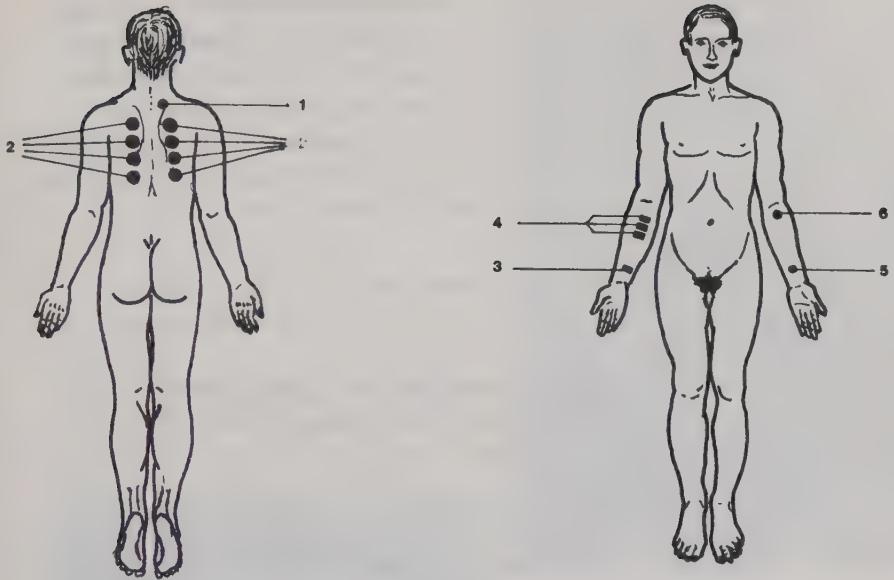
In der Zeit von November 1973 bis April 1974 wurden bei allen Versuchspersonen die nachstehend aufgeführten Untersuchungen vorgenommen, wobei alle Untersuchungen bzw. Extraktionen - soweit sie an der Versuchsperson selbst erfolgten - nach mindestens 30 Minuten Adaptation unter standardisierten Umweltbedingungen in der Klimakammer bei 25 °C und 45% relativer Luftfeuchtigkeit vorgenommen wurden.

1. Direkte Extraktion der Hautoberflächen-Lipide mit Petroläther, deren gravimetrische Bestimmung und dünnsschichtchromatographische Analyse
2. Direkte Extraktion des sogenannten Wasserlöslichen mit Aqua bidest und folgende Analysen des so gewonnenen Eluatmaterials:
 - a. Phenol-Schwefelsäure-Methode nach PARK und JOHNSON
 - b. Ferricyanid- (Reduktions-) Methode nach DUBOIS et al.
 - c. Ninhydrin-Methode nach MOORE und STEIN

An dem restlichen, kollektivweise gepoolten Extraktionsmaterial wurden außerdem bei allen vier Kollektiven folgende Analysen durchgeführt:

 - d. Milchsäurebestimmung nach BARKER
 - e. Glycerinbestimmung nach BURTON
 - f. qualitative Bestimmung der Aminosäuren mit Hilfe eines Autoanalyzers
3. Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität nach BURCKHARDT
4. Bestimmung der Alkaliresistenz nach BURCKHARDT
5. Messung der Benetzbarkeit der Haut (Spreitung) nach der Methode von SCHNEIDER und SCHULEIT
6. Thermometrische Untersuchung bei Kälteexposition

Die Extraktions- bzw. Untersuchungsstellen an den Versuchspersonen sind in Abb. 1 zusammengefaßt dargestellt. Sämtliche Meß- und Analysenergebnisse sind in den Tabellen 1 bis 14 Seite 80 ff. einschließlich arithmetischen Mittelwerten $\bar{m}_a$, Standardabweichung s und Signifikanzniveau α , einander gegenübergestellt.



1. Extraktion der Hautoberflächen-Lipide
2. Extraktion des sogenannten Wasserlöslichen
3. Alkalineneutralisations-Kapazität der Haut
4. Alkali-Resistenz der Haut
5. Benetzbarkeit der Haut (Spreitung)
6. Thermometrische Untersuchungen

Abb.1 Extraktions- bzw. Versuchsorte

2.2.0 Vorbemerkung zu den analytischen Methoden

Sämtliche Glasteile, die im Laufe der nachfolgend beschriebenen analytischen Methoden in irgendeiner Weise mit den Extrakten der Hautoberflächenlipide oder mit den Eluaten des sogenannten Wasserlöslichen oder deren Lösungsmitteln in Berührung kommen sollten, wurden vor Gebrauch gewissenhaft einer speziellen Reinigung unterzogen:

- a. mindestens 24 Stunden Chromschwefelsäurebad
- b. mindestens 2 Stunden Spülen unter fließendem Wasser
- c. mehrmaliges Nachspülen mit destilliertem Wasser
- d. Trocknen bei 120 °C im Trockenschrank für mindestens 1 Stunde

Zur Vermeidung von späteren Verunreinigungen besonders durch Berührung (Hautfett!) wurden die so gereinigten Glasteile nur mit Pinzetten oder Kornzangen berührt und in abgedeckten Glaszylindern aufbewahrt.

2.2.1 Extraktion und Analyse der Hautoberflächenlipide

2.2.1.1 Extraktion der Hautoberflächenlipide

Die Extraktion der Hautoberflächen-Lipide mittels Petroläther und deren gravimetrische Bestimmung erfolgte im wesentlichen nach der Methode von CARRIÉ (25) in der Modifikation nach SCHIRREN und HONSIG (143). Für die Extraktion wird in der Marburger Universitäts-Hautklinik ein zylindrischer Glasrohrabschnitt von 45 mm Innendurchmesser und 50 mm Höhe verwendet. Damit wird jeweils eine Hautfläche von ca. 16 cm² erfaßt. Der Glaszylinder wurde in Höhe von Th 3 etwas seitlich der Wirbelsäule unter Umgehung der sog. Schweißrinne direkt auf die Rückenhaut gesetzt und durch leichten Druck mit der Hand an der Außenseite des Zylinders festgehalten bzw. abgedichtet (Abb.2). Sodann wurde mit einer Glaspipette und aufgesetztem Peleusball 10,0 ml Petroleumbenzin p.A. (Siedebereich 40...60 °C) +)

+) Petroleumbenzin p.A., Fa. E. Merck, Darmstadt, Art. Nr. 1775

Abb. 2 Extraktion der Haut-
oberflächenlipide durch Pe-
troleumbenzin

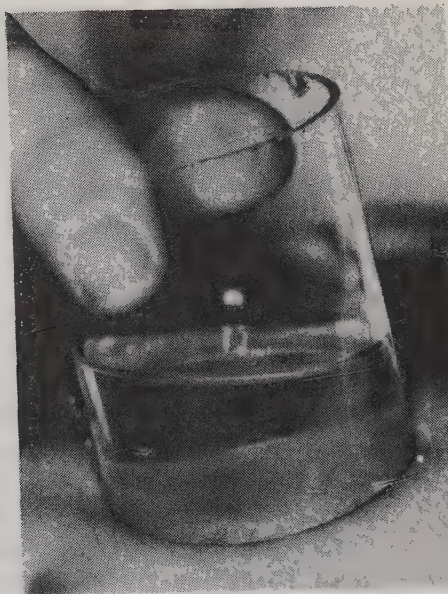
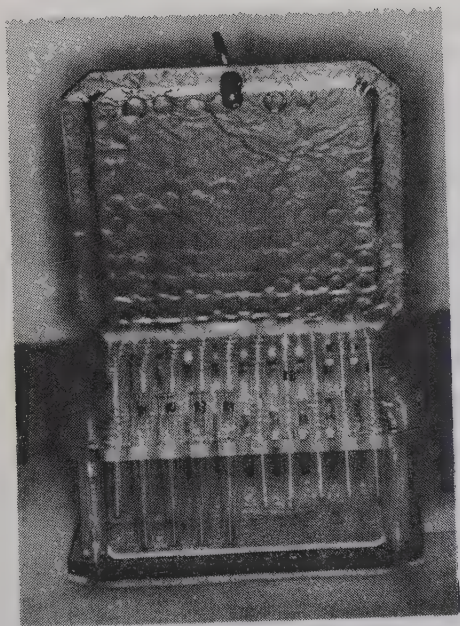


Abb. 3 Kleinstreagenzglas-
Ständer (paßt in Exsiccator
und verschließt die Röhrchen
bei Bedarf luftdicht)

in den Extraktionszylinder gefüllt und genau 120 Sekunden unter leichten Dreh- und Schüttelbewegungen auf der verschieblichen Haut bewegt. Sofort anschließend wurde das Lösungsmittel mit den darin gelösten Hautoberflächen-Lipiden mit der Pipette aufgesaugt und in ein bereitstehendes, speziell gereinigtes Reagenzglas gefiltert.

Das Lösungsmittel wurde dann im Exsikkator bei Unterdruck mit einer Wasserstrahlpumpe abgedampft und das Reagenzglas mit dem Lipidniederschlag bei -21°C in der Tiefkühltruhe bis zur weiteren Auswertung aufbewahrt.

2.2.1.2 Gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächenlipide

Zur quantitativen Bestimmung wurde der Lipid-Niederschlag nach 10-minütigem Auftauen und Abtrocknen der Gläser bei Raumtemperatur wie folgt aufgelöst und in ein nummeriertes Kleinstreagenzglas 2,5 ml (Meinecke-Röhrchen) mit auf 10^{-6} g genau bekanntem Leergewicht übertragen:

- a. Auflösen des Lipid-Niederschlags durch 1,0 ml Petroläther p.A. ⁺⁾ , der mittels Pasteurpipette am Reagenzglas-Innenrand tropfenweise herabfließen soll, wobei das Reagenzglas schräg gehalten und langsam gedreht wird.
- b. Auflösen und Abwaschen des Niederschlags durch drehende Schüttelbewegung des Reagenzglases 30 Sekunden lang, wobei darauf geachtet wurde, daß von dem Lösungsmittel der gesamte Niederschlagsbereich der ehemals 10 ml Extraktionslösung erfaßt wird.
- c. Abpipettieren in das speziell gereinigte, nummerierte und danach auf 10^{-6} g ausgewogene Kleinstreagenzglas mit einer weiteren Pasteurpipette.
- d. Wiederholen der Vorgänge a. und b. mit jeweils 0,5 ml Petroläther p.A. und Übertragen des gelö-

⁺⁾ Petroleumbenzin p.A., Fa. E. Merck, Darmstadt, Art.Nr. 1775

sten Restniederschlags mit der gleichen Pasteurpipette wie unter c.

- e. Wiederholen von d. mit 0,5 ml Petroläther p.A. und Wegwerfen der Pasteurpipette aus Vorgang c., d. und e.

Im Anschluß an die Übertragung wurde aus der Lipidlösung das Lösungsmittel im Exsikkator bei Unterdruck mit einer Wasserstrahlpumpe abgedampft. Die Hautoberflächen-Lipide blieben danach als dünner Belag in den Kleinstreagenzgläsern zurück. Um auch nicht sichtbare Reste von Feuchtigkeit und Lösungsmittel zu verdunsten, wurden die Kleinstreagenzgläser offen im Gestell in einen Trockenschrank bei 50 °C gestellt, wo sie für mindestens 1 Stunde verblieben. Danach kam das Gestell mit den Lipidproben in einen Exsikkator, der mit hoch wasserfreien Kupfer-II-Sulfat-Kristallen (dunkelblau!)+) beschickt war. In diesem geschlossenen Exsikkator verblieben die Proben für 24 Stunden zur Wärmeakklimatisation in der klimatisierten Wiegekammer.

Zum genauen Abwägen für die gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächen-Lipide wurden die Röhrchen mit einer Pinzette auf eine Spezialvorrichtung in der Mikrowaage++) gelegt, die es gestattet, solche Röhrchen zu wiegen. Es wurde peinlich genau darauf geachtet, daß die Wägegut - Kammer der Waage immer sofort wieder geschlossen wurde, daß immer eine ausreichend große Schale mit hoch wasserfreien Kupfer-II-Sulfat-Kristallen (dunkelblau!)+) in der Wägegut - Kammer der Waage stand und daß das Wägegut niemals in Berührung mit der fett-behafteten Haut der Hand kam.

Aus der Differenz zwischen dem auf 10^{-6} g genau gewogenen lipidhaltigen Kleinstreagenzglas und seinem bekannten exakten Leergewicht ergab sich das Gewicht der extrahierten Hautober-

+) 3 Tage bei 120 °C im Trockenofen kristallwasser-dehydriert

++) Type M5 SA, Fa. E.Mettler, Zürich/Schweiz
Meßgenauigkeit: 10^{-6} g

flächenlipide mit einer Genauigkeit von 10^{-6} g. Die gemessenen Einzelwerte wurden auf 1 cm^2 Hautoberfläche umgerechnet ($f=0,0629$).

Nach dem Wiegen wurden die nummerierten Röhrchen mit den Lipidextrakten in einen Spezialständer gestellt, der es erlaubte, die Röhrchen luftdicht abzuschließen (Abb. 3), und bis zur qualitativen Analyse bei -21°C in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt.

2.2.1.3 Dünnschicht-chromatographische Analyse der Hautoberflächenlipide und deren densitometrische Auswertung

Sämtliche Lipidextrakte wurden nach der Objektträger-Methode von VAN GENT (47) in der von GLOOR et al. (54) angegebenen Modifikation und unter Verwendung der von GRAUMANN (63) angegebenen Korrekturfaktoren untersucht.

A. Vorbereitung des Kieselgels

Als Adsorptionsmittel wurde ein Kieselgel ⁺⁾ verwendet, das wie folgt aufbereitet wurde:

- a. 1 Vol.-Teil Kieselgel wurde mit 2 Vol.-Teilen Aqua bidest durchgerührt, anschließend bei mindestens 3000 U/min in Glasröhren zentrifugiert;
- b. nach Abschütten des Wassers wurde das Kieselgel zweimal mit Methanol p.A. aufgerührt und ebenfalls jeweils bei 3000 U/min zentrifugiert;
- c. nach Abschütten des Methanols wurde das Kieselgel mit einem Gemisch von Methanol p.A. und Chloroform p.A. im Verhältnis 1:1 durchgerührt und bei 3000 U/min zentrifugiert;

⁺⁾ Kieselgel H nach STAHL, Typ 60 (Merck 7736)

- d. nach Abschütten der Gemischflüssigkeit wurde das Kieselgel dreimal mit Chloroform p.A. durchgerührt und jeweils bei 3000 U/min zentrifugiert;
- e. nach Abschütten des letzten Chloroforms wurde das auf diese Weise gewaschene Kieselgel so in Chloroform p.A. suspendiert, daß in 100 ml Chloroform 30 g trockenes Kieselgel enthalten waren.

B. Vorbereitung und Beschichtung der Platten

Als Dünnschichtplatten wurden fabrikneue Objektträger der Größe 76 x 25 mm benutzt, die mit eingravierten, fortlaufenden Nummern versehen, mit wasserfestem Korundpapier der Körnung 400-500 naß gleichmäßig aufgeraut und anschließend der weiter oben bereits beschriebenen Spezialreinigung für Glas-
teile unterzogen waren.

Vor dem Beschichten der Objektträger wurde das in Chloroform suspendierte aufbereitete Kieselgel mindestens 12 Stunden mit einem Magnetrührer und einem silikonummantelten Rührkörper blasenfrei homogenisiert. Als Gefäß diente dazu ein zylindrisches Glasgefäß mit Schliffdeckel.

Zum Beschichten wurden jeweils zwei eng aneinanderliegende Objektträger mit einer (gereinigten!) Pinzette für 2 Sekunden senkrecht in die homogenisierte Kieselgelsuspension eingetaucht und senkrecht ohne Unterbrechung schnell herausgezogen. Die noch feuchten, außen beschichteten Objektträger wurden für eine Sekunde senkrecht auf Fließpapier gestellt, um unten hängende Kieselgelsuspension abzusaugen, danach getrennt und an der Luft getrocknet.

Nach etwa 1 Minute Trockenzeit wurden die Ränder der Objektträger mit einem über den Fingernagel gelegten neuen Papiertaschentuch ca. 1-2 mm weit abgestreift, um Randeffekte zu vermeiden (Veränderung der R_f -Werte nach oben und unten).

Nachdem auch die Rückseite gesäubert war, wurden die beschichteten Objektträger durch Auflegen auf eine ebenfalls gesäuberte Heizplatte für 10 Minuten bei 100 °C aktiviert. Nach dem Abkühlen waren die Dünnschichtplatten zum Auftragen der Lipide bereit und konnten so einige Tage lichtgeschützt (Vergilbungsgefahr!) aufbewahrt werden.

C. Auftragen der zu trennenden Lipidgemischlösung

Nach dem Auftauen und Trocknen der Kleinstreagenzgläser im Spezialgestell wurde der Lipidniederschlag jedes Gläschens aufgelöst und auf eine Standardverdünnung von etwa 1,0 Gewichts-% gebracht. Dies geschah, indem man jeweils die 100-fache Menge des bekannten Gesamtgewichts der Lipide in ml Chloroform p.A. in die Kleinstreagenzröhrchen mit einer feingraduierten Enzympipette auf die schräggehaltene Innenwand laufen ließ und das Röhrchen dabei drehte. Nach dem Einlaufen des Chloroforms wurde das Röhrchen so lange in Schräghaltung gedreht, bis sich der an den Innenseiten des Gläschens befindliche Niederschlag vollständig gelöst hatte.

Mit Haarkapillaren, die man über der Flamme eines Bunsenbrenners durch zweimaliges Ausziehen einer Pasteurpipette herstellt, wurde nun das verdünnte Lipidgemisch etwa 5 mm vom unteren Rand der Dünnschichtplatte zwei Mal übereinander Punkt neben Punkt aufgetragen, wobei darauf zu achten war, daß die Kieselgelschicht nicht verletzt wird (Abb. 4). Die Bandbreite der aufgetragenen und breitlaufenden Lipidlösung sollte dabei 1,5 - 2 mm nach jeder Seite der Startlinie nicht überschreiten, was man durch die Feinheit der auslaufenden Kapillarspitze regulieren konnte.

D. Auftrennen des Lipidgemischs in Fraktionen

Das Auftrennen des Lipidgemischs in seine Einzelfraktionen geschah durch dreimaliges Entwickeln in verschiedenen Fließ-

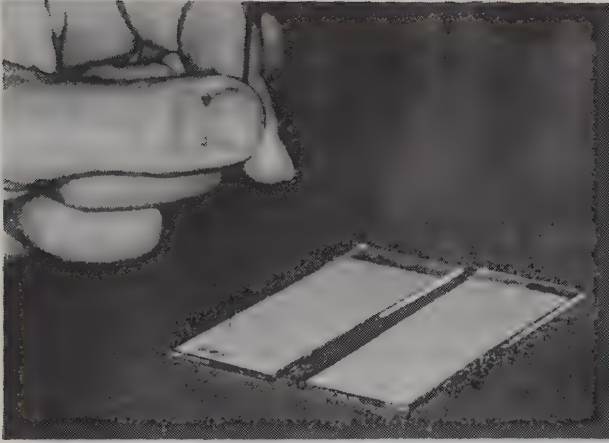


Abb. 4 Auftragen des 1 %igen Lipidgemischs mit einer Kapillare auf die beschichteten Objektträger (die Lipidlösung ist hier zur besseren Darstellung angefärbt)

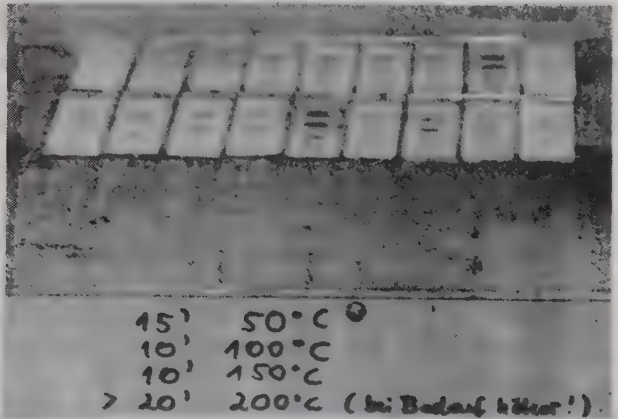


Abb. 5 Durch stufenweises Erhitzen werden die aufgetrennten Lipidfraktionen verascht und als dunkle Banden sichtbar

mitteln. Als Gefäße wurden Wägegläser von 50 mm Durchmesser und 90 mm Höhe verwendet, die mit einem Schliffdeckel NS 50 versehen waren.

Im ersten Fließmittel (Hexan p.A.) wurde das Lipidgemisch bis 5 mm unterhalb des oberen Randes der Kieselgel-Dünnschicht entwickelt. Nach Abtrocknen an der Luft wurde die Dünnschicht-Platte in das zweite Fließmittel gestellt (Gemisch: Hexan/Diäthyläther/Eisessig jeweils p.A. im Verhältnis 7 : 3 : 0,1 Volumen-Teile) und bis 5 mm unterhalb der Dünnschichtmitte entwickelt. Anschließend mußte wegen des weniger flüchtigen Eisessiganteils dieses Fließmittels ein Trocknen von 15 sec. bei 100 °C auf einer peinlich sauberen Heizplatte eingeschaltet werden. Nach Abkühlen der Dünnschichtplatte wurde im dritten Fließmittel (Benzol p.A.) bis 10 mm unterhalb des oberen Randes der Kieselgel-Dünnschicht entwickelt und anschließend an der Luft getrocknet (Abb. 6).

Während des Fließvorgangs bis zur vorgesehenen Fließhöhe waren die Gefäße dicht mit dem Schliffdeckel verschlossen zu halten, da die obere Fließgrenze besonders empfindlich gegen Verdunstung des Fließmittels war und sich nach Rückfall der oberen Fließgrenze eine zweite, die Auswertung verhindernde Lipidbandengruppe über der ersten aufgebaut hätte.

E. Sichtbarmachung der Lipidbanden durch Veraschung

Die Banden der einzelnen Lipidfraktionen mußten nun für die densitometrische Auswertung optisch aktiv gemacht werden. Das geschah durch Umsetzung mit 40 %iger Schwefelsäure und nachfolgender Veraschung.

Die entwickelten Dünnschicht-Platten wurden im Abzug mit einem Zerstäuber ⁺⁾ , der einen sehr feinen Nebel erzeugte, damit die Kieselgelschicht nicht verletzt wurde, gleich-

⁺⁾ Sprühgefäß der Fa. DESAGA, 69 Heidelberg

Abb. 7

Beispiel eines Densitometer-Kurvenzugs,
Lage der Fraktions-, 'Peaks' und deren
digitaler Flächenäquivalente

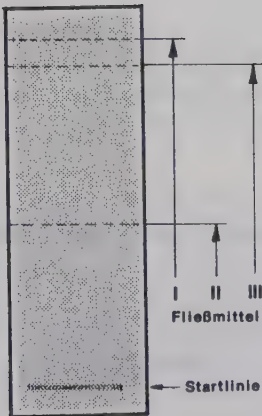
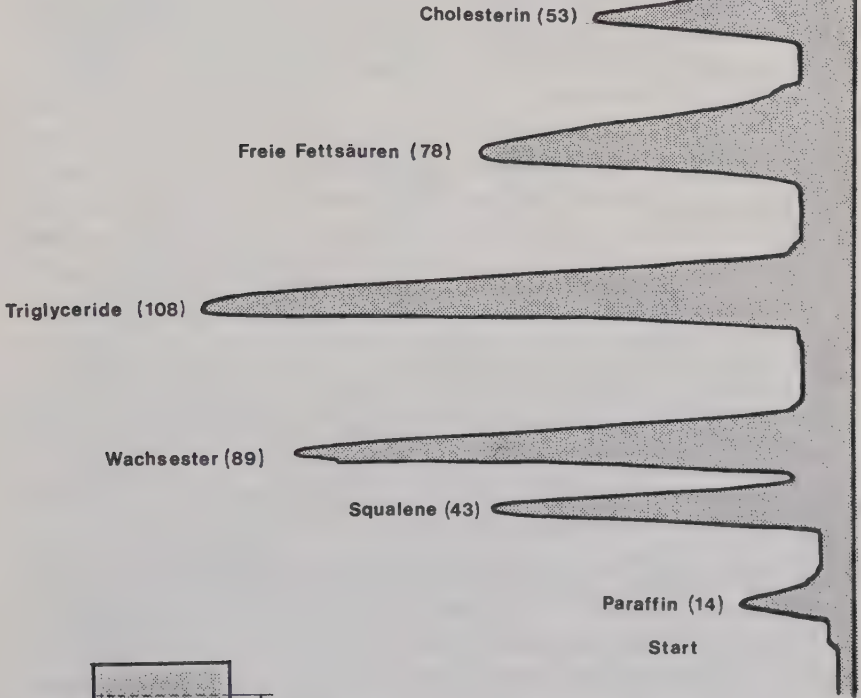


Abb. 6

Lage der Startlinie auf
einem Objektträger und
Fließmittel-Obergrenzen

mäßig und vorsichtig aus ca. 1 m Entfernung mit der 40 %igen Schwefelsäure besprüht und bei 50 °C auf einer Heizplatte vorgetrocknet.

Durch stufenweises Hochschalten der regulierbaren und mit einem Thermostat versehenen Heizplatte in bestimmten zeitlichen Intervallen wurden die Lipidbanden langsam erhitzt und verascht, so daß sie als Banden auch sichtbar wurden:

	10 min	100 °C	
	10 min	150 °C	
	10 min	180 °C	
	20 min	200 °C	
bei Bedarf:	20 min	230 °C	(Abb. 5)

F. Densitometrische (relativ-quantitative) Auswertung

Die densitometrische Auswertung ist insofern nur eine relativ-quantitative, weil sie allein nur eine Aussage über die prozentualen Anteile der Lipidfraktionen am Gesamtlipidgemisch erlaubt. Erst im Zusammenhang mit der Gesamtmenge der aus einer Hautfläche extrahierten Lipide ist eine echte quantitative Bestimmung der Einzelfraktionen möglich.

Die Auswertung der nun sichtbaren Lipidbanden erfolgte mit einem Densitometer ⁺⁾ , das nach dem Prinzip des Photometers arbeitet und die Schwärzung über die Länge der Dünnschichtplatte als Kurvenzug aufzeichnet. Ein im Densitometer eingebauter, digital anzeigender Integrator bestimmte gleichzeitig die Flächenäquivalente der aufgezeichneten Densitometerkurve. Eine solche typische Densitometerkurve ist in Abb. 7 dargestellt.

G. Auswertung der Densitometerkurven (Chromatogramme)

Das vom Densitometer als Kurvenausschlag (sog. 'peak') aufgezeichnete und vom Integrator vermessene und digital angezeig-

⁺⁾ Densitometer, Typ CHROMOSCAN, Fa. JOYCE-LOEBL

te Flächenäquivalent einer Lipidbande konnte unter bestimmten Voraussetzungen als Grenzwertsumme der Lipidkonzentrationen über die jeweilige Bandenbreite bzw. als Grenzwertsumme der Differentialprodukte aus Bandenbreite (Ordinate) und Schwärzungsintensität (Abszisse) aufgefaßt werden. Die Voraussetzung war, daß die Schwärzungsintensität proportional zur jeweiligen Lipidkonzentration steigt.

GRAUMANN (63) beschreibt in seiner Dissertation S.7-11, daß der Schwärzungsgrad, der beim Umsetzen mit 40 %iger Schwefelsäure und nachfolgendem Veraschen von Lipiden auftritt, bei gleichen Konzentrationen und standardisierten Bedingungen eine abhängige Variable der unterschiedlichen Struktur der jeweiligen Lipidfraktion ist:

"Triglyceride mit z.B. kurzkettigen oder gesättigten Fettsäuren ergeben bei gleicher Menge eine geringere Schwärzung als solche mit hoch ungesättigten Fettsäuren. Zur Korrektur dieser Unterschiede wurden die Schwärzungsfaktoren für die in der zu analysierenden Probe vorhandenen Lipide vorher ermittelt. (...) Cholesterin als einheitliche Verbindung erhielt den willkürlich festgelegten Schwärzungsfaktor 1."

Für die unterschiedliche Schwärzung der einzelnen Lipidfraktionen errechnete GRAUMANN folgende standardisierte Korrekturfaktoren:

Cholesterin	1,00	(willkürlich)
Freie Fettsäuren	1,11	
Triglyceride	1,35	
Wachsester (Walrat)	0,96	
Squalene	0,97	
Paraffin	1,08	

Um ein der Konzentration proportionales Flächenäquivalent zu erhalten, wurde der vom Integrator ermittelte Fraktionswert mit dem zugehörigen Schwärzungsfaktor multipliziert. Die Summe der so erhaltenen bereinigten, den Konzentrationen der einzelnen Lipidfraktionen proportionalen Flächenäquivalente entsprach der Summe des gesamten extrahierten Lipid-

gemischs und wurde demgemäß gleich 100 % gesetzt.

Die prozentualen Anteile der Einzelfraktionen - soweit sie voneinander getrennt werden konnten - ergaben sich aus der Formel:

$$\sum (F_n \cdot f_n) = 100 \% \quad \text{mit:}$$

n = Lipidfraktion

F_n = Flächenäquivalent einer Lipidfraktion n , vom Integrator digital angezeigt

f_n = Schwärzungsfaktor der Lipidfraktion n

nach der Dreisatzrechnung z.B. für Triglyceride:

$$\% \text{ TG} = \frac{F_{\text{TG}} \cdot 1,35 \cdot 100 \%}{\sum (F_n \cdot f_n)} .$$

Der absolute Anteil einer Lipidfraktion, z.B. der Triglyceride beträgt dann in Milligramm

$$\text{mg TG} = \frac{\text{mg Gesamtlipide} \cdot \% \text{ TG}}{100 \%} .$$

Die Hautoberflächenlipide lassen sich mit dieser Methode aus verschiedenen Gründen (begrenzte Unterschiede in den Fließeigenschaften, Überlagerung von kleinen Lipidfraktionen durch unvermeidbare Verunreinigungen in Lösungsmitteln, Kieselgel, Kieselgel-Waschflüssigkeiten, Verunreinigungen durch unsaubere Haut u.a.) nicht völlig in Einzelstoffe auftrennen, sondern nur in Fraktionen etwa gleicher Fließeigenschaften. So kommen in der Cholesterinfraktion unvermeidlich Diglyceride und in der Wachsesterfraktion Cholesterinester vor. Auch die Auftrennung von Squalenen und Wachsestern gelingt nicht immer vollständig exakt, so daß es zu Doppelpeaks in den Densitogrammen kommt. In der sog. Paraffinfraktion könnten ebenfalls noch aufschlußreiche Einzelsubstanzen identifiziert werden, wenn eine wesent-

lich stärker differenzierende Trennmethode benutzt würde. Für bestimmte Rückschlüsse bei der Auswertung der Ergebnisse wurde zusätzlich noch für jede Versuchsperson der Quotient aus den Freien Fettsäuren und den Triglyceriden FFA/TG ermittelt.

2.2.2 Extraktion und Analysen der wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche

Die Extraktion der wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche erfolgte im wesentlichen nach der Methode von GLOOR et al. (54), nachdem sich die Versuchspersonen mit unbedecktem Rücken für mindestens 30 Minuten an die standardisierten Bedingungen der Klimakammer adaptieren konnten.

Nach GLOOR et al. (54) werden zur Extraktion zylindrische Glasrohrabschnitte von 55 mm Innendurchmesser und 60 mm Höhe verwendet. Da jedoch das Durchschnittsalter der hier untersuchten Versuchspersonen relativ hoch war (bei 65 Jahren) und wegen der relativ dünnen und schlaffen Altershaut die darunterliegenden Knochen (Schulterblatt und Rippen) eine exakte Abdichtung des Zylinders auf der Haut immer wieder erschwerten, wurde für die Extraktionen, die Gegenstand dieser Untersuchung sind, überwiegend ein doppelwandiger Spezial-Glaszylinder benutzt, der es durch Festsaugen auch auf schlaffer Haut ermöglicht, eine exakte Abdichtung gegen das vorzeitige Wegfließen des Eluats zu erreichen (Abb. 8 und 9).

Die von GLOOR et al. benutzten Glaszylinder hatten sicher gestellt, daß im Eluat die wasserlöslichen Substanzen nur der Hautoberfläche und des Stratum corneum erfaßt wurden, im Gegensatz zu Analysen von Voll- oder Teilhautexcisaten, die durch Biopsie entnommen wurden und bei denen Kapillar- und Gefäßanteile nicht mit Sicherheit auszuschließen waren. Es mußte daher - um die Vergleichsmöglichkeit zu anderen, mit den einfachen Glaszylindern ermittelten Ergebnissen sicherzustellen - gewährleistet sein, daß durch den peri-



Abb. 8 Extraktion des Wasserlöslichen mit Aqua bidest. und Saugzylinder

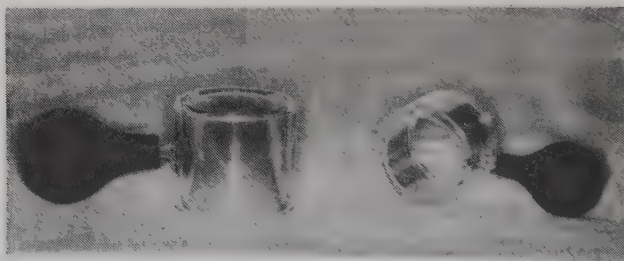


Abb. 9a Saugzylinder in Ansicht von oben und seitlich

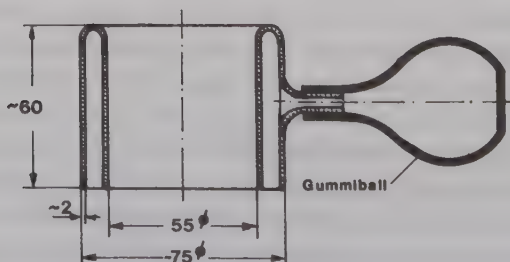


Abb. 9b Maße des Saugzylinders f.d. Extraktion d. Wasserlöslichen

pheren Unterdruck und der daraus resultierenden Mehrdurchblutung des peripheren Hautgewebes nicht Abweichungen aus der Methodik in die Ergebnisse eingingen.

Zu diesem Zweck wurde eine Reihe von Versuchspersonen, die mit einem 'x' vor ihrer Kennnummer gekennzeichnet waren, auf einer Rückenseite mit einem normalen Glaszylinder, auf der anderen Rückenseite mit dem Ansaugzylinder extrahiert. Die Ergebnisse wurden getrennt ausgewertet und einer Fehleranalyse unterzogen (siehe Anhang!).

Die Abweichungen waren minimal und ohne jede Richtungstendenz. Es konnte nicht nachgewiesen werden, daß diese Abweichungen auf die Verwendung der unterschiedlichen Zylinder zurückzuführen waren, und man muß annehmen, daß es sich dabei um methodenbedingte normale Streuungen der Werte im Bereich der systematischen Fehler handelt.

Es gab bei der Verwendung der Saugzylinder keinerlei Hautreaktionen, die nicht nach Beendigung aller Untersuchungen abgeklungen waren. Die Versuchspersonen, bei denen beide Zylinder benutzt wurden, empfanden es nach übereinstimmenden Angaben als subjektiv positiv, daß der mitunter schmerzhafte Druck der Unterkante des normalen Zylinders z.B. auf dem Schulterblatt beim Saugzylinder entfiel.

Aus diesem Grunde wurde nach der Fehlerauswertung bei allen weiteren Versuchspersonen nur noch der Saugzylinder benutzt.

2.2.2.1 Extraktion des sog. Wasserlöslichen

Die Extraktion des sogenannten Wasserlöslichen erfolgte in Höhe der Rückenwirbel Th 3, Th 6, Th 9 und Th 12 jeweils seitlich der Schweißrinne rechts und links. Erfasst wurde bei jeder Einzelextraktion ein Hautgebiet von 23,76 cm². Die Gewinnung des Eluats geschah nach einem Anreicherungsverfahren: nachdem der Zylinder vollständig abgedichtet war,

wurden mit Glaspipette und Peleusball 10,0 ml Aqua bidest. in den Extraktionszylinder gegeben und - soweit, wie die Haut verschieblich war - durch kreisförmiges Schwenken in Bewegung gehalten. Nach 120 Sekunden wurde das Eluat von der Extraktionsstelle mit der gleichen Pipette abgesaugt, der Zylinder am nächsten Extraktionsort dieser Rückenseite plaziert und abgedichtet, das Eluat wieder in den Zylinder gegeben und wiederum für 120 Sekunden dort bewegt. Nach allen vier Extraktionen auf der einen Rückenseite wurde das so mit den wasserlöslichen Substanzen angereicherte Eluat in ein bereitstehendes sauberes Reagenzglas gefiltert. Auf der anderen Rückenseite wurde ebenfalls mit 10,0 ml Aqua bidest. nach dieser Methode verfahren und das angereicherte Eluat zu dem Eluat der ersten Rückenseite gegeben.

Da bei jeder Teilextraktion eine geringe Menge Eluat auf der Haut verblieb, erhielt man bei diesem Verfahren insgesamt etwa 19 ml Eluat von jeder Versuchsperson, mit dem jeweils die auf Seite 16 unter 2 a - f aufgeführten Analysen vorgenommen wurden.

2.2.2.2 Korrektur- und Umrechnungsfaktoren

Bei den meisten der nachfolgend beschriebenen Analysen wird die gesuchte Menge Substanz aus einer photometrisch gemessenen Extinktion berechnet, die wiederum einer bestimmten analysierten Menge Eluats entspricht (1 ml, 2 ml, 2,5 ml). Um einerseits die weiter oben beschriebenen Pipettier- und Filtrierverluste zu korrigieren, andererseits die quantitativen Ergebnisse einheitlich in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ extrahierter Hautoberfläche angeben zu können, muß der gemessene Extinktionswert ΔE mit verschiedenen Korrektur- bzw. Umrechnungsfaktoren multipliziert werden, die hier vorweggenommen abgeleitet werden sollen.

A. Korrekturfaktor f_p für Pipettier- und Filtrierverluste

Um die tatsächliche Extinktion $\Delta E'$ zu erhalten, ist der Wert der gemessenen Extinktion ΔE mit einem Korrekturfaktor f_p für die Verluste beim Pipettieren und Filtrieren zu multiplizieren.

$$\Delta E' = \Delta E \cdot f_p$$

$$f_p = \frac{\Delta E'}{\Delta E}$$

Um die Pipettierverluste und den Verlust beim Filtrieren abschätzen zu können, wurde von zwei empirischen Annahmen ausgegangen, die experimentell überschlägig nachgeprüft wurden:

- a. Die Konzentration der gelösten Hautoberflächensubstanzen ist so gering, daß bei dem Anreicherungsverfahren eine vollständige und über die Extraktionsstufen lineare Löslichkeit angenommen werden kann. Das bedeutet:

nach der 1. Extraktion ist $1/4$ der Endsubstanz im Eluat
nach der 2. Extraktion ist $1/2$ der Endsubstanz im Eluat
nach der 3. Extraktion ist $3/4$ der Endsubstanz im Eluat
nach der 4. Extraktion ist $1/1$ der Endsubstanz im Eluat
auch beim Filtrieren ist $1/1$ der Endsubstanz im Eluat.

- b. Der Verlust an Eluatmenge ist gleichmäßig auf alle vier Extraktionen und die Filtration verteilt. Das heißt, bezogen auf den 1 ml verlorenes Eluat: pro Doppelextraktion verbleiben beim Abpipettieren 0,2 ml auf der Haut und einmalig 0,2 ml im Filterpapier. Die Verluste V_{1-5} an bereits gelöster Substanz betragen:

V_1 beim 1. Überpipettieren: 0,2 ml m. $1/4$ Endkonzentr.
 V_2 beim 2. Überpipettieren: 0,2 ml m. $1/2$ Endkonzentr.
 V_3 beim 3. Überpipettieren: 0,2 ml m. $3/4$ Endkonzentr.
 V_4 beim 4. Überpipettieren: 0,2 ml m. $1/1$ Endkonzentr.
 V_5 beim Filtrieren: 0,2 ml mit $1/1$ Endkonzentration.

$$V_1 = \frac{0,2 \text{ ml} \cdot 0,25 \Delta E'}{20 \text{ ml}} = 0,0025 \Delta E'$$

$$V_2 = \frac{0,2 \text{ ml} \cdot 0,5 \Delta E'}{19,8 \text{ ml}} = 0,0051 \Delta E'$$

$$V_3 = \frac{0,2 \text{ ml} \cdot 0,75 \Delta E'}{19,6 \text{ ml}} = 0,0077 \Delta E'$$

$$V_4 = \frac{0,2 \text{ ml} \cdot 1,0 \Delta E'}{19,4 \text{ ml}} = 0,0103 \Delta E'$$

$$V_5 = \frac{0,2 \text{ ml} \cdot 1,0 \Delta E'}{19,2 \text{ ml}} = 0,0104 \Delta E'$$

$$\Sigma V_{1-5} = 0,036$$

$$\Delta E' - 0,036 \Delta E' = \Delta E$$

$$\Delta E' (1 - 0,036) = \Delta E$$

$$\frac{\Delta E'}{\Delta E} = \frac{1}{0,964} \approx 1,037 = \text{fp}$$

Dieser Korrekturfaktor gilt für alle auf der Hautoberfläche extrahierten Substanzen in gleichem Maße, so daß er nur für die Absolutwerte der Mengen eine Rolle spielt, nicht jedoch für das Verhältnis der Substanzmengen untereinander.

Es muß hier auch auf die Fragwürdigkeit eines solchen Korrekturfaktors in der Größenordnung von 3-4 % der Gesamtmenge hingewiesen werden, solange nicht die unvermeidliche Fehlerbreite der Gesamtanalyse bestimmt ist. Diese Fehlerbreite für die Bestimmung der absoluten Substanzmengen pro Flächeneinheit extrahierter Hautoberfläche könnte durchaus beträchtlich größer als 4 % sein. Zur Klärung wären jedoch aufwendige Versuchsreihen erforderlich, und da der Korrekturfaktor nur in eine Richtung angewendet werden muß, trägt er zur Sicherung der Tendenz der Größenordnung aller fraglichen Substanzmengen bei. Aus diesem Grund wurde er nicht verworfen.

B. Umrechnungsfaktor f_E aus der Eichkurve

Die gemessenen und korrigierten Extinktionswerte erlauben allein noch keine exakte quantitative Aussage. Sie müssen anhand einer Vergleichskurve (Eichkurve) ausgewertet werden. Diese Eichkurve stellt die Beziehung zwischen Extinktion und Gewicht des gesuchten Stoffes in μg unter Berücksichtigung der methodenbedingten und subjektiven Fehlerquellen her.

Für den Fall, daß eine lineare Proportionalität zwischen Extinktion und gesuchtem Stoffgewicht besteht, stellt die Eichkurve eine Gerade dar, die durch den Nullpunkt des Koordinatensystems geht. In diesem Fall kann man die Steigung der Eichgeraden graphisch bestimmen und die Einzelwerte aller Versuchspersonen mit diesem Faktor aus den gemessenen und korrigierten Extinktionen rechnerisch ermitteln. Voraussetzung für die rechnerische Ermittlung des Gewichts mit dem Faktor f_E ist jedoch, daß alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinanderfolgend mit der gleichen Methode und mit den gleichen Reagenzien untersucht werden, die bei der Erstellung der Eichkurve benutzt wurden.

Für den Fall, daß die Proportionalität zwischen Extinktion und gesuchtem Stoffgewicht nicht linear ist, kann die Umrechnung nicht über den Faktor f_E erfolgen, man muß die Eichkurve benutzen.

C. Umrechnungsfaktor f_A Analysenansatz/Gesamteluat

Die unter B) ermittelten Stoffmengen in μg sind auf ein Standard-Äquivalent von 1; 2 oder 2,5 ml bezogen und demgemäß auch auf eine gleich große Menge Analysen-Ansatz. Um das Äquivalent des gesamten extrahierten jeweiligen Gewichts des fraglichen Stoffes zu erhalten, muß von der Ansatzmenge auf 19,0 ml Gesamteluat umgerechnet werden. Dieser Umrechnungsfaktor f_A beträgt bei den verschiedenen Methoden je

nach Menge des Ansatzes

$$f_A = \frac{19,0 \text{ ml}}{\text{Ansatz ml}}$$

z. B.:

für die Phenol-Schwefelsäure-Methode: $f_A = 9,5$

für die Ferricyanid-Methode: $f_A = 7,6$

für die Ninhydrin-Methode: $f_A = 95,0$

für die Milchsäure-Bestimmung: $f_A = 380,0$

für die Glycerin-Bestimmung: $f_A = 47,5$

D. Umrechnungsfaktor f_F (Gesamtfläche zu 1 cm²)

Die einheitlich normierende Angabe $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (extrahierte Stoffmenge pro Quadratcentimeter extrahierter Hautoberfläche) erhält man schließlich, indem man die bisher ermittelten Werte durch die Gesamtfläche extrahierter Haut dividiert. Das geschieht mit dem Umrechnungsfaktor f_F .

$$f_F = \frac{1}{F} = \frac{1}{8 \cdot r^2 \cdot \pi} = \frac{1}{190,07} = 0,00526$$

Damit ergibt sich das gesuchte exakte Stoffgewicht pro cm²:

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = \Delta E \cdot f_P \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F}}$$

2.2.2.3 Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode

Mit dieser Methode werden unter den nachfolgend detailliert angegebenen Versuchsbedingungen, wie sie DUBOIS, GILLES, HAMILTON, REBERS und SMITH (35) ausgearbeitet haben, vor allem die reduzierenden Substanzen der Hautoberfläche erfaßt, im einzelnen: verschiedene Aminosäuren (Serin, Tyrosin,

Cystin und Tryptophan), proteingebundene Zucker, freie Zucker, Milchsäure, Glycerin und Zitronensäure, ferner Creatinine und verschiedene Zwischenprodukte des Kohlehydratstoffwechsels. Im Gegensatz zur später beschriebenen Ferricyanid-Methode bevorzugt die Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode die Proteine, proteingebundene Zucker; diese haben einen höheren Einfluß auf den gemessenen Extinktionswert als bei der Ferricyanidmethode.

A. Zur Theorie der Methode

Nach Angaben von DUBOIS et al. werden die Zucker vermutlich zu Furfurol-Derivaten umgebaut, die dann mit Phenol reagieren, wobei die zur quantitativen Messung benutzte rötlich-orangene Farbe ($\lambda_{\max}$. Glucose bei 488...490 nm) entsteht. Verschiedene Zucker bilden bei diesem Prozeß verschiedene Absorptionsmaxima: für Pentosen, methylierte Pentosen und Uronsäuren liegt dieses Maximum bei etwa 480 nm, für Hexosen, Disaccharide, Oligo- und Polysaccharide einschließlich ihrer methylierten Derivate, die ein freies oder ein potentiell freies reduzierendes Radikal besitzen, liegt das Absorptionsmaximum bei etwa 490 nm.

B. Verwendete Reagenzien

- a. konzentrierte Schwefelsäure p.A. 95...97% (Merck 731)
- b. 80 %iges Phenol (80 g Phenol p.A. Merck 206 und 20 ml Aqua bidest.)
- c. Glukose-Standardlösung (Boehringer Glucose: 9,1 mg/100 ml)

C. Analyse

Im Labor unseres Hauses galt folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„Zu 2,0 ml der zu untersuchenden Lösung (15...60 µg Zucker enthaltend) werden mit einer Eppendorf-Pipette 50 µl 80 %iges Phenol gegeben. Die Proben werden dann vier Mal nacheinander gut geschüttelt, dann läßt man aus einer geeichten Vollpipette 5 ml konzentrierte Schwefelsäure aus einigen Zentimeter Höhe zentral auf die Flüssigkeitsoberfläche schießen, damit es zu einer gleichmäßigen Verteilung der Mischungswärme kommt. Das ist sehr wichtig, da die für die Reaktion benötigte Energie aus dieser Mischungswärme bezogen wird. Der letzte Rest in der Pipette wird ausgeblasen.

Nachdem alle Proben so behandelt wurden, werden die Gläser mit dem Schliffstopfen verschlossen und der Reihe nach kurz geschüttelt.

Die Proben bleiben so für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Reagenzglasgestell stehen, wobei zwischen den Schliffgläsern jeweils ein Platz frei bleiben soll, damit es zu einer gleichmäßigen Abkühlung kommen kann.

Sofort anschließend werden die Proben im Eppendorf-Photometer bei 492 nm gegen einen Blindwert (enthält statt der Untersuchungslösung 2,0 ml Aqua bidest.) gemessen. Der Blindwert bestimmt den Nullpunkt der Photometerskala, er wird vorher noch gegen Luft gemessen ($BW \approx 0,070...0,080$). Zur Kontrolle der Übereinstimmung mit der Eichkurve läßt man zwei Standardwerte (bei etwa $1/3$ und $2/3$ der Eichungsreihe) mitlaufen."

D. Auswertung

Die so gewonnenen Extinktionswerte erlauben allein noch keine exakte quantitative Aussage. Wie bereits im Absatz 2.2.3.2 B. erläutert, müssen sie anhand

einer Eichkurve ausgewertet werden und ergeben dann Werte für eine äquivalente Menge Glukose in den 2,0 ml Eluat-Ansatz.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„Es werden 0,1; 0,2; 0,3 ... 1,0 ml der Standard-Glukose-Lösung in den Ansatz gegeben und jeweils mit Aqua bidest. auf 2,0 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift beschrieben.“

Aus der Eichkurve (Abb.10) könnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Glukosemenge in μg pro 2,0 ml Eluat-Ansatz direkt abgelesen werden. Da die ermittelte Eichkurve eine relativ genaue Gerade durch den Nullpunkt des Koordinatensystems darstellte, wurde die Steigung der Geraden bestimmt und damit auch der Umrechnungsfaktor f_E .

$$f_E = 103,6$$

Da alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinander folgend mit gleicher Methode und gleichen Reagenzien untersucht wurden, konnten alle Werte mit den entsprechenden Faktoren rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen ermittelt werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Umrechnungsfaktor war:

$$f = f_P \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1,037 \cdot 103,6 \cdot 9,5 \cdot 0,00526$$

$$f = 5,37$$

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = 5,37 \cdot \Delta E}}$$

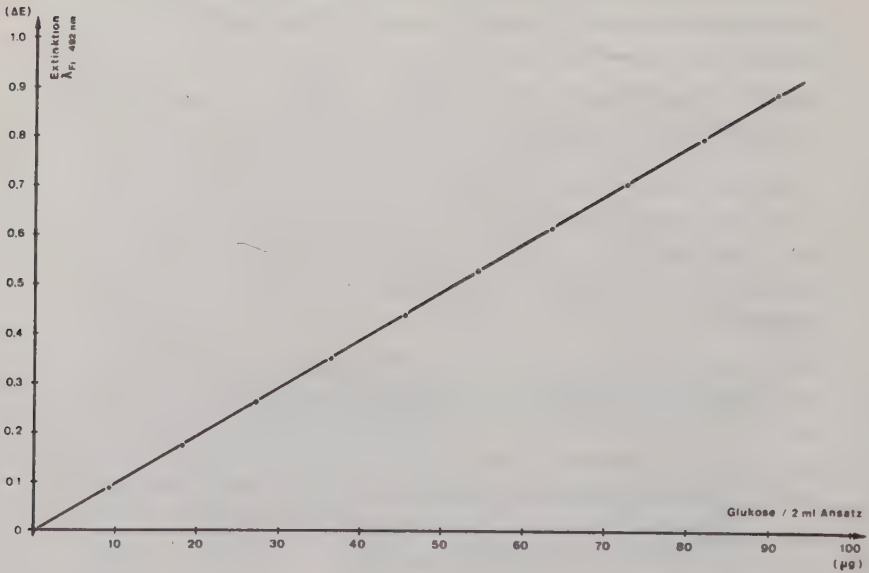


Abb. 10 Eichkurve für Phenol-Schwefelsäure-Methode
 Glukose-Standard: 9,1 mg / 100 ml
 (10.03.1974)

$$\mu\text{g Gl.}/2\text{ml} = f_E \cdot \Delta E$$

$$f_E = \frac{\mu\text{g Gl.}/2\text{ml}}{\Delta E} = 103,6$$

	Glukose-St.		ΔE	f _E	
	ml	μg/2ml			
Blindwert:	0,0	0,0	0,072	—	(= Skalen-Nullpunkt)
	0,1	9,1	0,088	103,41	
	0,2	18,2	0,175	104,00	
	0,3	27,3	0,262	104,20	
	0,4	36,4	0,354	102,82	
	0,5	45,5	0,442	102,94	
	0,6	54,6	0,530	103,02	
	0,7	63,7	0,612	104,08	
	0,8	72,8	0,700	104,00	
	0,9	81,9	0,790	103,67	
	1,0	91,0	0,880	103,41	

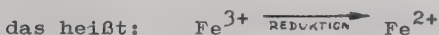
$$1035,55 : 10 = 103,6 = f_E$$

2.2.2.4 Analyse mit der Ferricyanid-(Reduktions-)Methode

Mit dieser Methode werden unter den nachstehend genau beschriebenen Versuchsbedingungen, wie sie PARK und JOHNSON (121) angegeben haben, reduzierende Substanzen des Eluats erfaßt. Im Gegensatz zur Phenol-Schwefelsäure-Methode beeinflussen hier die Aminosäuren (Serin, Tyrosin, Cystin und Tryptophan) sowie die Amino Zucker (z.B. Glucosamine) besonders das Ergebnis. Erfaßt werden daneben auch andere gebundene Zucker, Milchsäure, Zitronensäure und Glycerin.

A. Zur Theorie der Methode

Kaliumhexacyanoferrat (III) wird von reduzierenden Substanzen in Kaliumhexacyanoferrat (II) übergeführt:



Wenn man Lösungen dieser Komplexverbindungen mit Eisensalzlösungen, die Eisen der jeweils anderen, nicht im Komplex vorhandenen Oxydationszahl enthält, versetzt, entsteht das tief dunkelblaue sogenannte ‚Berlinerblau‘. Kaliumhexacyanoferrat (II) kann also durch Zugabe von Fe^{3+} -Ionen als ‚Berlinerblau‘ nachgewiesen und zur quantitativen photometrischen Messung benutzt werden.

Unter geeigneten Bedingungen vermögen auch Zucker diese Reduktion zu bewirken. Als besonders günstig hat sich hierfür ein Milieu von $\text{pH} \geq 10,5$ und die Gegenwart von CN^- als Katalysator erwiesen. Unterhalb des pH-Wertes von 10,5 erhöhen sich die Reaktionszeiten beträchtlich. Man muß also dafür sorgen, daß saure Untersuchungslösungen vorher, z.B. durch

angemessene Zugabe von Natriumkarbonat, gepuffert werden.

Das grenzflächenaktive Tensid Natriumlaurylsulfat (Lsg. IIa) wird nur zugesetzt, um den zur Messung benötigten kolloidalen Farbstoff, der alsbald auszufallen beginnt, in Dispersion zu halten. Für die Analysenreaktion selbst hat es keinerlei Bedeutung. Geringere Konzentrationen als angegeben haben sich als unzureichend erwiesen, ebenso die Zugabe von Methylzellulose in Lsg. III.

Da die Methode außerordentlich empfindlich ist, muß die oben beschriebene spezielle Reinigung aller Glas-
teile mit größter Sorgfalt beachtet werden. Am empfindlichsten ist diese Methode im Bereich von 690 nm, aus Gründen der Vereinfachung wurde die etwas weniger empfindliche Messung bei 578 nm bevorzugt, zumal sich dabei die leichte, durch das Natriumlaurylsulfat bedingte 'Linksverschiebung' der Spektralkurve günstiger auswirkt.

B. Verwendete Reagenzien

- a. Lsg. I 0,5 g Kaliumhexacyanoferrat(III) p.A.
 $K_3^+ [Fe(CN)_6]^{3-}$ (Fa. Riedel-de Haën AG,
 Hannover) pro 1000 ml Aqua bidest.
- b. Lsg. II 5,3 g Natriumkarbonat wasserfrei p.A.
 (Merck 6392) +
 0,65 g Kaliumcyanid p.A. (Merck 4967)
 pro 1000 ml Aqua bidest.
- c. Lsg. IIa 5,0 g Natriumlaurylsulfat p.A.
 (Fa. Carl Roth, Karlsruhe)
 pro 1000 ml Aqua bidest.

- d. Lsg. III 3,0 g Ammonium-Eisen-III-Sulfat p.A.
 $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Merck 3776) +
50 ml 1n-Schwefelsäure p.A.
pro 1000 ml Aqua bidest.
- e. Glukose-Standardlösung (Boehringer Glucose: 9,1 mg/
100 ml) 1:9 d.h. auf 1/10 mit Aqua bidest. verdünnt.

C. Analyse

Im Labor unseres Hauses gilt die folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„Zu 2,5 ml Untersuchungslösung mischt man 1,0 ml Lösung I, 1,0 ml Lösung II und vorsichtig 0,5 ml Lösung IIIa (keine Luftblasen erzeugen, Schaumbildungsgefahr!). Die Proben werden anschließend für 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt und dann unter fließendem Wasser auf ca. 20 °C abgekühlt.

In die abgekühlten Proben läßt man langsam unter Vermeidung von Luftblasen 5,0 ml Lösung III zulaufen und mischt vorsichtig ohne Schaumbildung. Die Proben werden dann im Eppendorf-Photometer bei 578 nm gegen einen Blindwert (enthält statt der Untersuchungslösung 2,5 ml Aqua bidest.) gemessen. Der Blindwert enthält wie alle Proben etwas reduzierende Substanz aus dem Natriumlaurylsulfat, er wird zuvor gegen Luft gemessen und liegt etwa bei 0,150...0,160. Er dient zur Nullpunkteinstellung der Photometerskala bei den nachfolgenden Probenmessungen.

Zur Kontrolle der Übereinstimmung mit der Eichkurve läßt man zwei Standardwerte (bei etwa 1/3 und 2/3 der Eichungsreihe) mitlaufen.“

D. Auswertung

Wie bei der Phenol-Schwefelsäure-Methode erlauben

die so gewonnenen Extinktionswerte nur anhand einer Eichkurve exakte quantitative Aussagen über eine dem Glukosestandard äquivalente Menge reduzierender Substanz in den 2,5 ml Untersuchungslösung.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„Es werden 2,0 ml der Standardglukose (91 $\mu\text{g}/\text{ml}$) und 18,0 ml Aqua bidest. gut gemischt, so daß eine auf 1/10 verdünnte Standardglukose (9,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) entsteht. Von dieser Standard-Glukose-Verdünnung werden 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0...2,0 ml in jeweils einen Eichansatz gegeben und mit Aqua bidest. jeweils auf 2,5 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben.“

Aus der so ermittelten Eichkurve (Abb.11) konnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Glukosemenge der zu untersuchenden 2,5 ml Eluat direkt abgelesen werden. Da aber auch diese Eichkurve eine relativ genaue Gerade durch den Nullpunkt des Koordinatensystems darstellte, konnte wiederum die Steigung der Geraden und damit der Umrechnungsfaktor f_E errechnet werden:

$$f_E = 28,09$$

Da wiederum alle Proben einschließlich der Standardwerte unmittelbar aufeinander folgend mit gleicher Methode und gleichen Reagenzien untersucht wurden, konnten die Werte aller Versuchspersonen mit den entsprechenden Faktoren rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen bestimmt werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Umrechnungsfaktor war:

$$f = f_p \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1,037 \cdot 28,09 \cdot 7,6 \cdot 0,00526$$

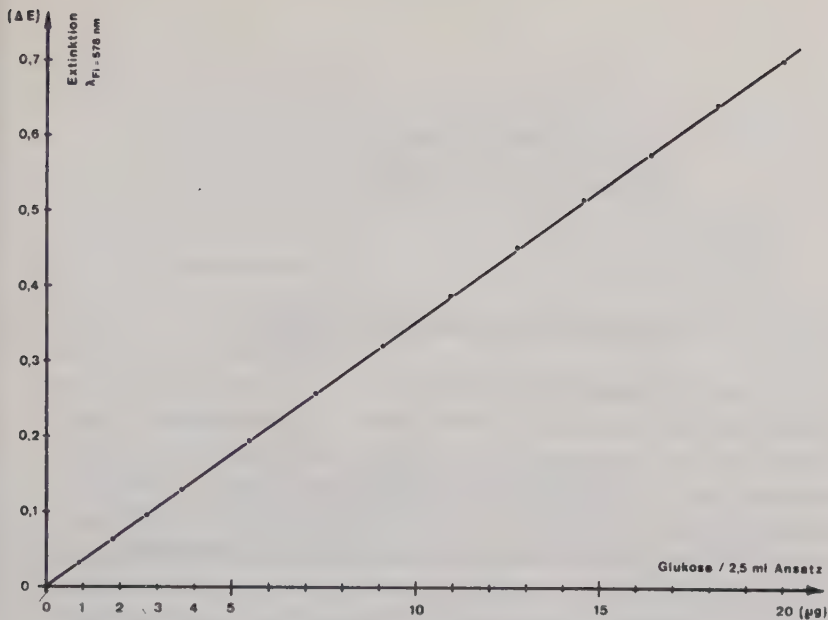


Abb. 11 Eichkurve für Ferricyanid-(Reduktions-)Methode

Glukose-Standard: 9,1 μg / ml, d.i. Glukose-Standard 9,1 mg / 100 ml 1 : 9 verdünnt (18.03.1974)

$$\mu\text{g Gl.}/2,5 \text{ ml} = f_E \cdot \Delta E$$

$$f_E = \frac{\mu\text{g Gl.}/2,5 \text{ ml}}{\Delta E} = 28,09$$

Blindwert:	Gl.-St. 1 : 9		ΔE	f _E	
	ml	μg/2,5 ml			
	0,0	0,00	0,155		(= Skalen-Nullpunkt)
	0,1	0,91	0,033	27,58	
	0,2	1,82	0,064	28,44	
	0,3	2,73	0,096	28,44	
	0,4	3,64	0,130	28,00	
	0,6	5,46	0,195	28,00	
	0,8	7,28	0,258	28,22	
	1,0	9,10	0,323	28,17	
	1,2	10,92	0,390	28,00	
	1,4	12,74	0,455	28,00	
	1,6	14,56	0,520	28,00	
	1,8	16,38	0,581	28,19	
	2,0	18,20	0,648	28,09	
					337,13 : 12 = 28,09 = f _E

$$\underline{f = 1,165}$$

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = 1,165 \cdot \Delta E}}$$

2.2.2.5 Analyse mit der Ninhydrin-Methode

Mit dieser, von MOORE und STEIN (111) beschriebenen Methode werden vor allem die Aminosäuren unter den wasserlöslichen Substanzen der Hautoberfläche erfaßt, aber auch Peptide, Proteine, Amine und Ammoniumverbindungen. Sie reagiert sowohl auf freie wie auch auf gebundene Aminogruppen. Diese Methode umfaßt damit einen relativ weiten Reaktionsbereich, ist aber andererseits sehr empfindlich. Während der Analyse nach dieser Methode ist darauf zu achten, daß Ammoniak und alle anderen Substanzen, die eine Amino- oder Ammoniumgruppe enthalten, zu Fehlern in der Methodik führen können.

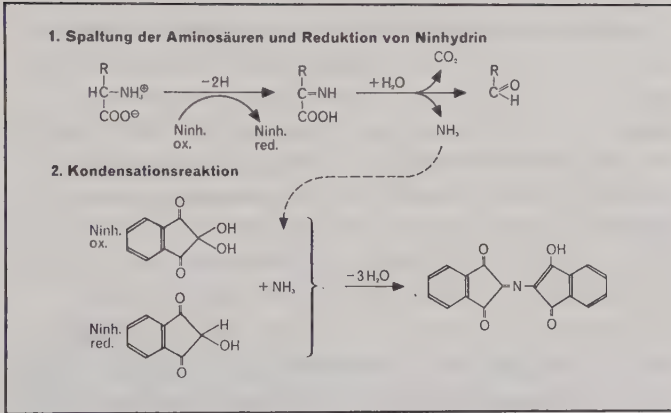
A. Zur Theorie der Methode

Prinzip und Reaktionsablauf beschreibt AEBI (1)

S. 172 - 173 wie folgt:

„Ninhydrin (1,2,3-Triketohydrindenhydrat) gibt beim Kochen in neutraler oder saurer Lösung beim Vorhandensein irgendwelcher -NH_2 enthaltender Verbindungen einen blauvioletten Farbstoff.

Beim Kochen kommt es in Gegenwart von Ninhydrin vorerst zu einer oxydativen Desaminierung und zugleich Decarboxylierung der Aminosäure. Dabei entsteht einerseits der um ein C-Atom ärmere Aldehyd nebst freiem NH_3 und CO_2 , andererseits wird Ninhydrin in äquivalenter Menge zu Hydrindantin reduziert. In einem zweiten Schritt kondensieren je ein Molekül Ninhydrin, Hydrindantin und NH_4^+ zu einem blauen Farbstoff, dessen



Reaktionsablauf bei der Ninhydrin-Probe

(nach AEB1)

Struktur derjenigen des Indigo ähnlich ist. Zur quantitativen Erfassung kann je nach Situation entweder der gebildete Farbstoff oder das freigesetzte CO₂ als Maß genommen werden."

Es wurde hier der Farbstoff zur Messung bevorzugt.

Die verschiedenen Aminosäuren ergeben alle die gleichen Farbstoffe, nämlich blauviolett bis blaue, lediglich Prolin und Hydroxyprolin ergeben eine gelbe, hellere Farbe. Während die blauviolette Farbe mit einem gefilterten Licht von 578 nm gemessen wird, muß Prolin und Hydroxyprolin bei 440 nm bestimmt werden.

B. Verwendete Reagenzien:

a. Ninhydrin-Reagenz:

5,0 g Ninhydrin p.A. (Merck 6762) und 0,75 g Hydrindantin p.A. (Merck 4510) werden unter Vermeidung von Blasen unter Stickstoffschutz in

187,5 ml Methylcellosolve (Merck 859) = Äthylen-glycolmonomethyläther aufgelöst, dann werden 62,5 ml 4 n Natriumacetat-Puffer pH 5,5 langsam zugegeben. Die vorher gelbe Lösung muß dabei dunkelrot werden. Diese Lösung muß in einer braunen Flasche lichtgeschützt, unter Stickstoffschutz im Kühlschrank aufbewahrt werden, deshalb empfiehlt es sich, für den aktuellen Bedarf ca. 50 ml separat ebenfalls in eine braune Flasche abzufüllen. (Durch Lagerung oder durch mangelhaften Stickstoffschutz gelb gewordenenes Reagenz kann allenfalls für halbquantitative, keinesfalls jedoch für exakt quantitative Bestimmungen benutzt werden).

b. Natriumacetat-Puffer pH 5,5

272 g Natriumacetat-Trihydrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{ H}_2\text{O}$) p.A. (Merck 6267) werden in 200 ml Aqua bidest. gelöst, wobei das Glas in ein heißes Wasserbad zu stellen ist. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 50 ml Eisessig p.A. (Merck 90062) zugegeben, und der gesamte Ansatz wird auf 500 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt.

Der pH-Wert der Pufferlösung sollte $5,51 \pm 0,03$ sein; gegebenenfalls kann mit festem NaOH nachgestellt werden ($0,5\text{ g} \approx 0,04\text{ pH}$). Die Pufferlösung wird ebenfalls mit Stickstoff begast und im Kühlschrank lichtgeschützt aufbewahrt.

c. Leucin-Standard

1,3118 g ($\approx 0,01\text{ Mol}$) l-Leucin (Chr. Fluka AG, Buchs SG) werden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst. Dieses Standard-Konzentrat enthält $10\text{ }\mu\text{M/ml}$. Von dem Standard-Konzentrat werden 40 ml entnommen und mit Aqua bidest. auf 1000 ml verdünnt.

Damit hat man einen Leucin-Standard mit $0,4 \mu\text{M/ml}$. Sowohl das Standard-Konzentrat wie auch der Leucin-Standard müssen (in Plastikflaschen!) eingefroren aufbewahrt werden.

d. 50%iges Äthanol

Man mischt 500 ml Äthanol (Äthylalkohol 96 %, evtl. vergällt) mit 500 ml Aqua bidest. Diese Mischung ist natürlich nicht genau 50 %ig, reicht aber für den Zweck völlig aus.

C. Analyse

Im Labor unseres Hauses galt die folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„Zu 0,2 ml Untersuchungslösung gibt man 0,8 ml Aqua bidest. und 1,0 ml Ninhydrinreagenz (nach Entnahme die Flasche sofort wieder mit Stickstoff begasen und in den Kühlschrank stellen!), schüttelt vorsichtig und stellt den Ansatz für 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad. Anschließend wird er im Eiswasserbad (ca. 5°C) abgekühlt und mit dem 50 %igen Äthanol auf 10 ml aufgefüllt.

Die Proben werden nach vorsichtigem Mischen mit dem Eppendorf-Photometer bei 578 nm gegen einen Blindwert gemessen, der statt der Untersuchungslösung 1,0 ml Aqua bidest. enthält. Der Blindwert wird vorher gegen Luft gemessen, er liegt etwa zwischen 0,090 ... 0,100 und dient zur Nullpunkt-Einstellung der Photometerskala bei den Probenmessungen. Zur Kontrolle der Übereinstimmung mit der Eichkurve läßt man zwei Standardwerte (bei etwa $1/3$ und $2/3$ der Eichungsreihe) mitlaufen.“

D. Auswertung

Wie bei den vorangegangenen Analysemethoden erlauben die so gewonnenen Extinktionswerte quantitative Aus-

sagen nur anhand einer Eichkurve, und dann auch nur solche über eine dem Leucinstandard äquivalente Menge Aminosäuren in der Untersuchungslösung.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift:

„Es werden 0,1; 0,2; 0,3 ... 1,0 ml Leucinstandard jeweils in den Ansatz gegeben und mit Aqua bidest. jeweils ad 1,0 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben.“

Aus der so ermittelten Eichkurve (Abb.12) könnte die einer bestimmten Extinktion äquivalente Menge Leucin direkt in nMol bzw. μg abgelesen werden.

Da aber auch diese Eichkurve durch den Koordinaten-nullpunkt geht und im Bereich der auszuwertenden Extinktionswerte eine nahezu exakte Gerade bildet, wurde aus der Steigung der Gerade der Umrechnungsfaktor f_E bestimmt:

$$\underline{f_E = 459,8 \cdot 0,13118 = 60,32}$$

Alle Proben einschließlich der Standardwerte wurden unmittelbar aufeinander folgend mit gleicher Methode und gleichen Reagenzien untersucht. Deshalb konnten alle Werte mit den entsprechenden Faktoren rechnerisch aus den gemessenen Extinktionen bestimmt werden. Der dieser Versuchsreihe gemeinsame Faktor f war:

$$f = f_P \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

$$f = 1,037 \cdot 60,32 \cdot 95,0 \cdot 0,00526$$

$$\underline{f = 31,26}$$

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = 31,26 \cdot \Delta E}}$$

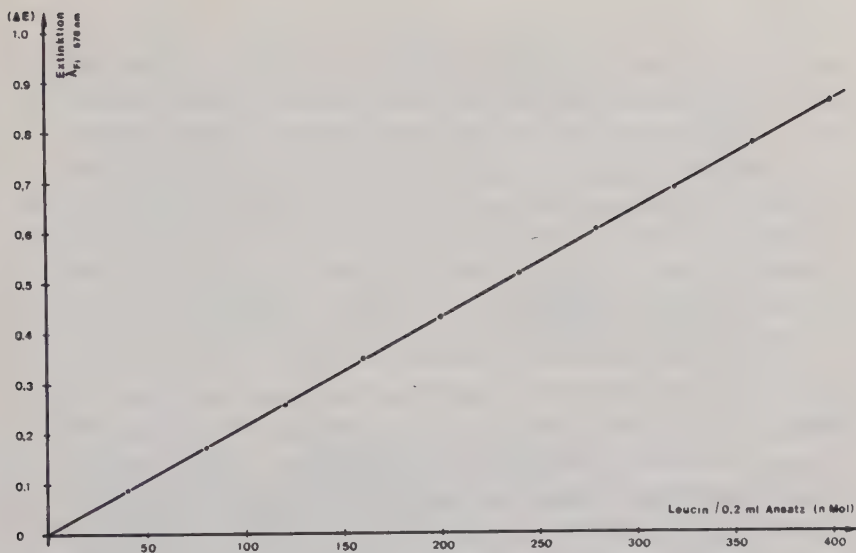


Abb. 12 Eichkurve für Ninhydrin-Methode

Leucin-Standard: 400 nMol / ml mit
 1 nMol = 0,13118 µg
 (29.03.1974)

$$\begin{aligned} \text{nMol}/0,2\text{ml} &= f_E \cdot \Delta E \\ f_E &= \frac{\text{nMol}/0,2\text{ml}}{\Delta E} = 459,8 \\ f_E &= 459,8 \cdot 0,13118 \\ f_E &= \underline{60,32} \end{aligned}$$

Leucin-St.		ΔE	f _E	
ml	nMol			
0,0	0	0,070	—	(= Skalen-Nullpunkt)
0,1	40	0,087	459,77	
0,2	80	0,175	457,14	
0,3	120	0,261	461,54	
0,4	160	0,350	458,45	
0,5	200	0,433	461,89	
0,6	240	0,522	459,77	
0,7	280	0,610	459,02	
0,8	320	0,695	460,43	
0,9	360	0,783	459,77	
1,0	400	0,869	460,30	

4598,08.: 10 = 459,8 = f_E

Das verbliebene Extraktionsmaterial wurde nun kollektivweise so gepoolt, daß das gepoolte Material eines Kollektivs von jeder Versuchsperson des entsprechenden Kollektivs die gleiche Menge Eluats enthielt. Leider war es nicht zu vermeiden, daß während des Lagerns in der Gefriertruhe Verluste durch Glasbruch und Gefrierschäden auftraten, so daß aus den Kollektiven MED und MED-VK nur noch jeweils 20 und aus den Kollektiven NED und NED-VK nur jeweils 14 Versuchspersonen in den Eluatpools vertreten waren.

Die folgenden biochemisch-analytischen Untersuchungsmethoden betrafen somit Eluatgemische, deren Werte praktisch einer vorweg methodisch eingestellten Summe bzw. - nach dem Dividieren durch die Anzahl der vertretenen Versuchspersonen - einem vorweg methodisch eingestellten arithmetischen Mittelwert entsprachen, bei dem weder Fehlerberechnung, Standardabweichung noch eine andere statistische Auswertung möglich war. Die Ergebnisse dieser Analysen haben also nur geringe Aussagekraft und können nur zum Bekräftigen anderweitig ermittelter Ergebnisse herangezogen werden oder Hinweise darüber vermitteln, ob und in welcher Richtung künftig gezielt untersucht werden sollte.

An dem gepoolten Eluatmaterial jedes Kollektivs wurden die folgenden Analysen vorgenommen:

2.2.2.6 Semiquantitative Bestimmung der Milchsäure

Das methodische Vorgehen erfolgte im wesentlichen genau nach den Angaben von BARKER (11).

A. Zur Theorie der Methode

Nach den Angaben von BARKER wird Milchsäure durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure in einen Acetaldehyd umgewandelt, der mit p-Phenyl-Phenol

einen Farbstoff bildet, dessen Intensität photometrisch bei 560 nm bestimmt werden kann.

Anmerkungen lt. Laborjournal und Analysenvorschrift:

1. Die Methode ist in jeder Beziehung sehr empfindlich und verlangt genaueste Einhaltung der Kautelen.
2. Sie liefert nur im Bereich zwischen 0 ... 5 $\mu\text{g/ml}$ eine tendenzielle Gerade als Eichkurve, aber gerade bei Messungen in diesem Bereich ist die Gefahr von Fehlern durch Verunreinigungen der Haut besonders groß.
3. Für Routine-Untersuchungen größeren Maßstabes bzw. bei größeren Kollektiven sollte eine enzymatische Methode erwogen und ausgearbeitet werden.

B. Verwendete Reagenzien

- a. Kupfersulfat-Lösung 4 %ig: 40,71 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (Merck 2790) werden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst.
- b. Konzentrierte Schwefelsäure p.A. 95...97 % (Merck 731)
- c. Paraphenylphenol-Lösung: 1,5 g p-Hydroxydiphenyl (= 4-Oxydiphenyl p.A. Dr. Th. Schuchardt GmbH & Co., 8 München, Nr. 609) werden in 100 ml 1/8 n NaOH-Lösung filtriert.
- d. Milchsäure-Standard: 1,11 ml Milchsäure p.A. 90 % (Merck 366) werden mit Aqua bidest. auf 1000 ml verdünnt (1 mg/ml = 0,1%).
- e. Kupfersulfat-Lösung 20 %ig: 219,14 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (Merck 2790) werden in 1000 ml Aqua bidest. gelöst.

f. Kalziumhydroxid $\text{Ca}(\text{OH})_2$ p.A. pulverförmig
(Merck 2047)

Die beiden unter e. und f. genannten Reagenzien werden nur benötigt, falls die zu untersuchende Lösung störende Mengen Proteine, Glukose oder andere interferierende Stoffe enthält, was vor der Analyse ausprobiert werden muß. Falls dies der Fall ist, wird die nachstehende Vorbehandlung erforderlich.

C. Vorbehandlung

Bei der Untersuchung von Blutserum, Lymph- oder Gewebeflüssigkeit ist es unbedingt erforderlich, bei der Untersuchung von wäßrigem Eluat meist ratsam, vor der Analyse sowohl Proteine als auch Glukose und andere störend reagierende Substanzen zu entfernen.

Zum Ausfällen der Proteine kann man grundsätzlich jeder der dazu gebräuchlichen Stoffe benutzen: Trichloressigsäure, Wolframsäure, Zinkhydroxid oder Cadmiumhydroxid. Beim Entfernen des Proteinniederschlags ist allerdings das Zentrifugieren dem Filtrieren vorzuziehen, da bei letzterem trotz hochwertigen Filterpapiers nicht immer alle Proteine beseitigt werden können.

Um Glukose und andere störend reagierende Substanzen aus der zu analysierenden Lösung zu entfernen, ist eine Behandlung mit Kupfersulfat und Kalziumhydroxid erforderlich:

2,0 ml proteinfreie Untersuchungslösung (ca. 20... 100 µg Milchsäure enthaltend) werden mit 1,0 ml 20 %iger Kupfersulfat-Lösung versetzt und mit Aquabidest. auf 10,0 ml verdünnt. Nach dem Zusetzen von ca. 1 g Kalziumhydroxid-Pulvers wird das Gefäß mit

einem frischen Stück Parafilm verschlossen und kräftig geschüttelt, bis sich das Pulver vollständig gelöst hat. Danach bleibt dieser Ansatz bei gelegentlichem Schütteln etwa 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen, dann wird bei mindestens 3000 U/min zentrifugiert und der obere 1 ml abpipettiert.

Bei dem hier untersuchten gepoolten Eluat erwies sich diese Vorbehandlung nicht als notwendig, da es störende Proteine kaum enthielt und die enthaltene Glukose das Meßergebnis nicht ersichtlich beeinflusste.

D. Analyse

Für die Analyse galt in unserem Labor die folgende Analysenvorschrift, nach der exakt vorgegangen wurde:

„50 μ l vom gepoolten Eluat werden mit Aqua bidest. auf 1,0 ml verdünnt und mit 50 μ l 4% iger Kupfersulfatlösung versetzt. Dann werden - im Eisbad! - 6 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzugegeben. Anschließend wird dieser Ansatz vorsichtig geschüttelt und für 5 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur (ca. 20 °C) werden 50 μ l 1,5% ige p-Phenyl-Phenol-Lösung zugegeben, und nach gutem Schütteln bleibt der Ansatz für 30 Minuten bei 30 °C im Wasserbad stehen. Damit möglicherweise noch nicht ganz gelöstes p-Phenyl-Phenol in Lösung gehen kann, wird der Ansatz anschließend nochmals für 90 Sekunden ins kochende Wasserbad gestellt, unter Leitungswasser auf Raumtemperatur abgekühlt und sofort im Photometer (Beckmann DK 2 A) bei 560 nm gegen einen Blindwert gemessen, der statt des gepoolten und verdünnten Eluatgemischs 1 ml Aqua bidest. enthält.“

E. Auswertung

Da zwischen Extinktion und Milchsäurekonzentration

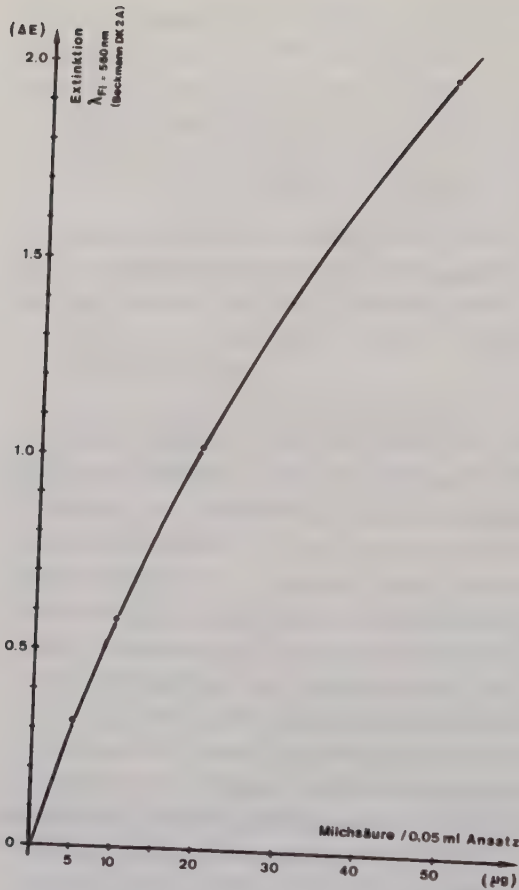


Abb. 13 Eichkurve für Milchsäure-Bestimmung
Milchsäure-Standard: 1 mg / ml = 1 %ig
(29.09.1974; B.)

μg	ΔE
5	0,310
10	0,590
20	0,930
50	1,500

Koll.	ΔE	ΔE · f _E
NED-VK	0,250 ⁺)	4,14
NED	0,375	6,20
MED	0,488	8,07
MED-VK	0,355	5,87

⁺) geschätzt

im Ansatz keine direkte Proportionalität besteht, müssen die Milchsäurewerte von einer vorher mittels standardisierter Eichlösungen erstellten Eichkurve abgelesen werden. Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift:

„Es werden die 5; 10; 20 und 50 μg äquivalenten Mengen Milchsäurestandard in den Ansatz gegeben und mit Aqua bidest. jeweils auf 1,0 ml aufgefüllt. Dann wird genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben.“

Die so ermittelte Eichkurve (Abb.13) ist nicht linear, so daß eine Bestimmung des Faktors f_E aus der Steigung der Eichkurve nicht möglich ist. Die vier Werte $\Delta E \cdot f_E$ können jedoch leicht aus der Eichkurve direkt abgelesen werden.

Der dieser Analyse gemeinsame verbliebene Umrechnungsfaktor f ist:

$$f = f_P \cdot f_A \cdot f_F$$

In f_A mußte die Verdünnung von 50 μl Eluat auf 1 ml Ansatz, die ursprüngliche Menge Eluat von 19 ml pro Versuchsperson und die Anzahl der im Eluatpool vertretenen Versuchspersonen berücksichtigt werden.

$$f_A = \frac{20 \cdot 19}{20} = 19,00 \quad (\text{für die Kollektive MED und MED-VK})$$

$$f_A = \frac{20 \cdot 19}{14} = 27,14 \quad (\text{für die Kollektive NED und NED-VK}).$$

Damit ist für die Kollektive MED und MED-VK

$$f = 1,037 \cdot 19,00 \cdot 0,00526 = 0,1036$$

und mit $\Delta E \cdot f_E$ aus der Eichkurve abgelesen

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = (\Delta E \cdot f_E) \cdot 0,1036}}$$

und für die Kollektive NED und NED-VK

$$f = 1,037 \cdot 27,14 \cdot 0,00526 = 0,1480$$

$$\underline{\underline{\mu\text{g/cm}^2 = (\Delta E \cdot f_E) \cdot 0,1480}}$$

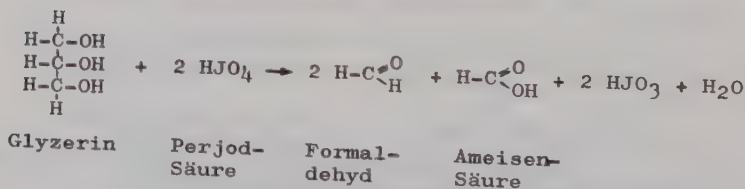
Wichtiger Hinweis: Es muß nach unseren Erfahrungen angenommen werden, daß durch längeres Lagern auch im tiefgefrorenen Zustand (-21 °C) oder durch mehrmaliges Auftauen der mit dieser Methode erfaßte Milchsäuregehalt der Proben relativ schnell abnimmt. Es muß für erneute Untersuchungen angeraten werden, von jedem Eluat sofort die entsprechende Menge für einen Pool bzw. sogar für jede einzelne Analyse abzuzweigen, einzeln einzufrieren, diese vor dem Analysieren nicht mehr aufzutauen und die Analyse schnellstmöglich vorzunehmen.

2.2.2.7 Semiquantitative Bestimmung des Glyzerins

Das methodische Vorgehen erfolgte genau nach den Angaben von BURTON (22).

A. Zur Theorie der Methode

Das in der Probe enthaltene Glyzerin wird durch die Perjodsäure zu Formaldehyd und Ameisensäure oxidiert:



Der entstandene Formaldehyd kann photometrisch mit Chromotropsäure bestimmt werden.

B. Verwendete Reagenzien

a. 2,5 n Schwefelsäure p.A.

- b. 0,1 m Perjodsäure
- c. 1,0 m Natriumarsenit-Lösung (130 mg/ml)
- d. Chromotropsäure (Chromotropic acid, Merck 2498):
80 ml 24 n H_2SO_4 werden vorsichtig zu einer filtrierten Lösung von 200 mg 4,5-Dihydroxy-2,7-Naphtalin-Disulfonsäure-Natriumsalz gegeben.
Das Reagenz ist nur eine Woche haltbar und muß vor Licht geschützt aufbewahrt werden.
- e. Glyzerin-Standard (1 mMol/l):
106 mg Glyzerin p.A. 87 % (Merck 4094) werden in 1000 ml Aqua bidest. aufgelöst.

C. Analyse

Für die Analyse galt in unserem Labor die folgende Analysenvorschrift, die exakt eingehalten wurde:

„Zu 0,4 ml gepooltem Eluatgemisch (ca. 0,05...0,3 μMol Glyzerin enthaltend; andere Polyole müssen ggf. durch Chromatographie an Celite 535 entfernt werden) sind 0,1 ml 2,5 n H_2SO_4 und 0,2 ml 0,1 m HJO_4 zu geben. Die Mischung wird 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann gibt man zur Entfernung des HJO_4 -Überschusses 0,2 ml 1 m Natriumarsenit-Lösung zu, läßt nochmals 15 Minuten bei Raumtemperatur stehen und verdünnt dieses Gemisch durch Zugabe von 1,1 ml Aqua bidest. auf 2,0 ml. Diesem Ansatz entnimmt man ein 0,5 ml Aliquot, versetzt es mit 5,0 ml Chromotropsäure-Lösung und kocht 30 Minuten im Wasserbad.

Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird die Extinktion im Eppendorf-Photometer bei 570 nm gegen einen Blindwert gemessen, der statt des gepoolten Eluatgemischs 0,4 ml Aqua bidest. enthält und zur Einstellung des Nullpunkts der Photometerskala dient.

D. Auswertung

Da zwischen Extinktion und Glycerinkonzentration im Ansatz keine direkte Proportionalität besteht, muß der Glyceringehalt der zu untersuchenden Probe von einer vorher mittels standardisierter Eichlösungen erstellten Eichkurve bestimmt werden.

Für die Aufstellung der Eichkurve galt die folgende Laborvorschrift:

„Es werden jeweils 0,1; 0,15; 0,2; 0,25...0,40 ml Glycerin-Standard ($1,0 \mu\text{Mol/ml}$) in den Ansatz gegeben, mit Aqua bidest. auf 0,4 ml aufgefüllt und genau so verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben.“

Die so ermittelte Eichkurve (Abb. 14) ist praktisch linear und geht durch den Nullpunkt des Koordinatensystems. Deshalb kann auch bei dieser Untersuchungsreihe aus der Steigung der Gerade der Umrechnungsfaktor f_E bestimmt werden. Er beträgt

$$f_E = 30,7$$

Der dieser Analyse gemeinsame allgemeine Umrechnungsfaktor f ist wiederum

$$f = f_P \cdot f_E \cdot f_A \cdot f_F$$

Im Faktor f_A mußten berücksichtigt werden: die Umrechnung vom Aliquot 0,5 ml auf den Ansatz, vom Ansatz auf die Gesamtmenge Eluat pro Versuchsperson von 19 ml und die Anzahl der berücksichtigten Versuchspersonen pro Kollektiv.

$$f_A = \frac{4 \cdot 2,5 \cdot 19}{20} = 9,50 \quad (\text{für die Kollektive NED u. NED-VK})$$

$$f_A = \frac{4 \cdot 2,5 \cdot 19}{14} = 13,57 \quad (\text{für die Kollektive NED u. NED-VK})$$

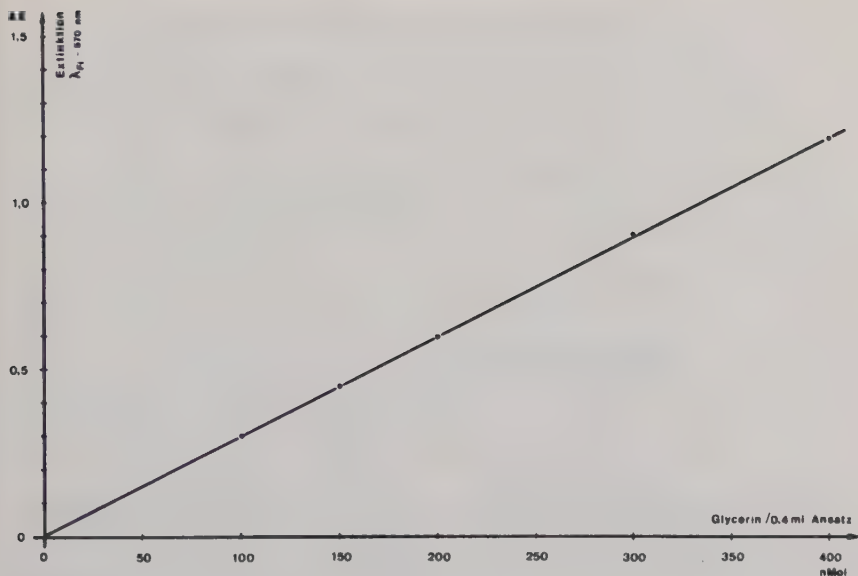


Abb. 14 Eichkurve für Glycerin-Bestimmung

Glycerin-Standard: 1 nMol / μ l mit

1 nMol = 0,0921 μ g

(25.07.1974; K.)

$$\text{nMol} / 0,4 \text{ ml} = f_E \cdot \Delta E$$

$$f_{E_{\text{nMol}}} = \frac{\text{nMol} / 0,4 \text{ ml}}{\Delta E} = 332,7$$

$$f_{E_{\mu\text{g}}} = 332,7 \cdot 0,0921$$

$$f_{E_{\mu\text{g}}} = \underline{30,70}$$

Glyz.-St. ml	nMol	ΔE	f_E
0,1	100	0,300	333,3
0,15	150	0,450	333,3
0,2	200	0,600	333,3
0,3	300	0,910	330,0
0,4	400	1,200	333,3

$$1663,2 : 5 = 332,7 = f_{E_{\text{nMol}}}$$

damit ist für die Kollektive MED und MED-VK

$$f = 1,037 \cdot 30,7 \cdot 9,5 \cdot 0,00526 = 1,59$$

und für die Kollektive NED und NED-VK

$$f = 1,037 \cdot 30,7 \cdot 13,57 \cdot 0,00526 = 2,27.$$

Die durchschnittliche Glyzerinmenge pro cm^2 ist somit:

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = 1,59 \cdot \Delta E}} \quad (\text{MED und MED-VK})$$

$$\underline{\underline{\mu\text{g}/\text{cm}^2 = 2,27 \cdot \Delta E}} \quad (\text{NED und NED-VK}).$$

2.2.2.8 Qualitative und quantitative Analyse der Aminosäuren

Diese Analyse wurde mit einem Autoanalyzer (BC-Instrument 200, Amino Acid Analyzer, BioCal-Instrument G.m.b.H., 8000 München-Gräfelfing) im Institut für Biopolymere der Universität Marburg/Lahn durchgeführt.⁺⁾

Material: Von jeweils 20 Versuchspersonen der Kollektive MED und MED-VK sowie von jeweils 14 Versuchspersonen der Kollektive NED und NED-VK wurden 1,9 ml Eluat kollektivweise zusammengeschüttet, gefriergetrocknet und in jeweils 4 ml Aqua bidest pro Kollektiv wieder aufgelöst. Davon wurde pro Kollektiv 1,0 ml zur Analyse gegeben.

Umrechnungsfaktoren:

Die Analysenwerte waren in $\text{nMol}/1 \text{ ml}$ Ansatz angegeben. Um sie auf 1 cm^2 extrahierter Hautoberfläche zu standardisieren mußten die Analysenwerte mit dem Korrektur- und Umrech-

⁺⁾ Frau Dr. Christa Ebert vom Institut für Biopolymere der Universität Marburg sei hier für die Durchführung der Analyse gedankt.

rechnungsfaktor f multipliziert werden:

$$f = f_P \cdot f_A \cdot f_F$$

Die Faktoren f_P und f_F sind die gleichen Faktoren wie bei den anderen Analysen des Wasserlöslichen, nämlich $f_P = 1,037$ und $f_F = 0,00526$.

Der Faktor f_A ist für die Kollektive MED und MED-VK bzw. für die Kollektive NED und NED-VK:

$$f_A = \frac{4 \cdot 10}{20} = 2,0 \quad \text{bzw.} \quad f_A = \frac{4 \cdot 10}{14} = 2,857$$

damit wird f für die jeweiligen Kollektive:

$$f = 1,037 \cdot 2,0 \cdot 0,00526 = 0,01091 \quad \text{bzw.}$$

$$f = 1,037 \cdot 2,857 \cdot 0,00526 = 0,01559$$

Mit den Analysenwerten W_A in nMol wird dann:

$$\underline{\underline{nMol/cm^2 = 0,01091 \cdot W_A}} \quad \text{für die Kollektive MED und MED-VK}$$

$$\underline{\underline{nMol/cm^2 = 0,01559 \cdot W_A}} \quad \text{für die Kollektive NED und NED-VK.}$$

Für die in dieser Arbeit verwendete Angabe in $\mu g/cm^2$ müßte der so errechnete Wert $nMol/cm^2$ jeder Aminosäure mit 0,001 des Molekulargewichts in Gramm der betreffenden Aminosäure multipliziert werden. Das ist in dieser Arbeit bei der Fraktion Prolin/Citrulin nicht möglich, da beide Aminosäuren unterschiedliche Molekulargewichte haben, jedoch nicht aufgetrennt werden konnten. Aus diesem Grund wurde die Berechnung der Prozentangaben bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren über die Werte in $nMol/cm^2$ vorgenommen.

Die Ergebnisse dieser Analyse sind in der Tabelle 8 zusammengefaßt.

2.2.3 Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität der Hautoberfläche

Es wurde nach der Methode vorgegangen, wie sie von BURCKHARDT (20;21) beschrieben wurde. Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des rechten Unterarmes etwa 5 cm oberhalb des Handgelenks (Abb. 1). Behaarte Stellen wurden umgangen. Wo nötig, wurde die Behaarung mechanisch und ohne zu schaben abgeschert.

Verwendet wurde eine 1/80 n NaOH-Lösung, welche (Luft-CO₂-Neutralisation!) stets aus einer 1 n NaOH-Lösung frisch angesetzt wurde, eine 0,5 %ige alkoholische Phenolphthalein-Lösung als Indikator, Tropfpipetten (Pasteurpipetten), die eine praktisch konstante Tropfengröße abgaben, ein Glasblock von 30 x 20 mm und 15 mm Dicke und eine handelsübliche Stoppuhr.

Auf der gesunden, waagerecht liegenden Haut des Unterarms wurde an der oben angegebenen Stelle ein Feld von 35 x 25 mm mit einem Schreiber markiert (Abb.15).

In das Feld wurde ein Tropfen Indikatorlösung getropft, sofort anschließend ein Tropfen der 1/80 n Natronlauge und dann wurde das Feld mit dem Glasblock zugedeckt, der zur gleichmäßigen Durchmischung der Flüssigkeitsschicht alle 30 Sekunden etwas angehoben und wieder aufgelegt wurde.

Die zunächst rote Flüssigkeitsschicht entfärbte sich bei Neutralisation (pH 8,3) bis auf ein kaum sichtbares Rosa. Gemessen wurde die Zeit vom Auftropfen der Natronlauge bis zur Entfärbung. Unmittelbar nach Beendigung der Messung wurde die markierte Hautstelle mit einem frischen, weichen Zellstofftuch sorgfältig trockengetupft und der gleiche Versuch an der gleichen Stelle solange wiederholt, bis zehn Messungen vorlagen.

Es wurde darauf geachtet, daß die Reihenfolge der Handgriffe, die eine beachtliche Schnelligkeit erforderten, immer die

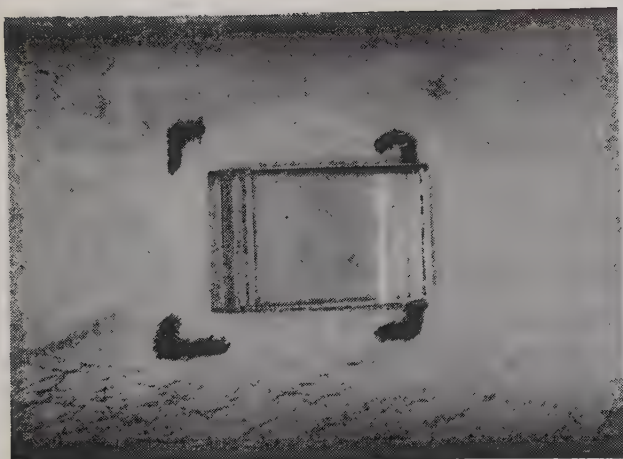


Abb. 15 Alkalineutralisationszeit-Bestimmung
am rechten Unterarm

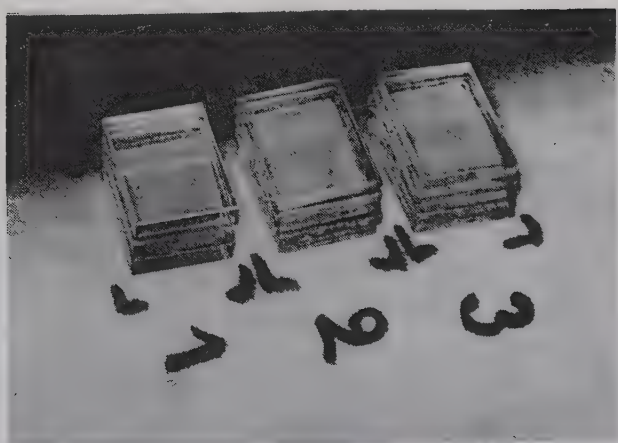


Abb. 16 Alkali-resistenz-Bestimmung am rechten
Unterarm

gleiche blieb. Das Auftropfen wurde mit der rechten, das Abdecken mit der linken, das Starten der Stoppuhr wiederum mit der rechten Hand vollzogen, so daß zwangsläufig bedingte Meßzeitfehler bei allen Messungen an allen Versuchspersonen möglichst gleich blieben.

2.2.4 Bestimmung der Alkaliresistenz der Hautoberfläche

Bei dieser Untersuchung wurde nach der Methode vorgegangen, wie sie ebenfalls von BURCKHARDT (20; 21) beschrieben wurde.

Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des rechten Unterarms etwa in der Mitte zwischen Hand- und Ellenbogengelenk (Abb. 1). Behaarte Stellen wurden umgangen. Wo nötig, wurde die Behaarung mechanisch und ohne zu schaben abgeschert.

Verwendet wurde eine 0,5 n NaOH-Lösung, Tropfpipetten (sog. Pasteurpipetten), die eine praktisch konstante Tropfengröße abgaben, drei Glasblöcke der Größe 30 x 20 mm und 15 mm Dicke und eine handelsübliche Kurzzeitweckuhr.

Auf der gesunden, waagrecht liegenden Haut wurden drei nebeneinander liegende Felder von 35 x 25 mm mit einem Schreiber markiert (Abb. 16). Dann wurde auf alle drei Felder je ein Tropfen der 0,5 n Natronlauge appliziert. Die Tropfen wurden mit den drei Glasblöcken bedeckt, die wiederum mit schmalen Heftpflasterstreifen fixiert wurden.

Nach 10 Minuten (Kurzzeitweckuhr!) wurden die Glasblöcke entfernt und die markierten Felder mit frischen weichen Zellstofftüchern trockengetupft. Falls die Haut innerhalb der Markierungen noch keine Reaktion zeigte (in Betracht gezogen wurden folgende Reaktionen: punktförmige oder flächenhafte Rötung, Bläschen, Urtica oder andere Effloreszenzen), wurden die zwei proximal gelegenen Felder erneut mit je einem Tropfen der 0,5 n Natronlauge versehen und mit den

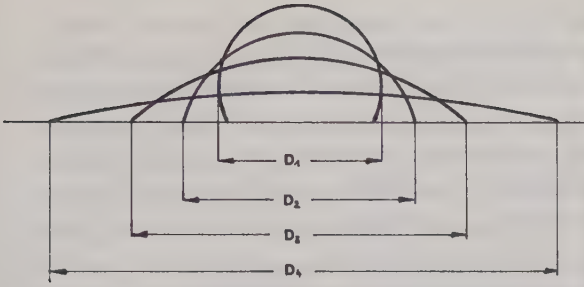


Abb. 17 Tropfendurchmesser in Abhängigkeit von der Benetzbarkeit der Haut

Abb. 19 Tropfenfläche bei Applikation und nach 60 Sekunden →

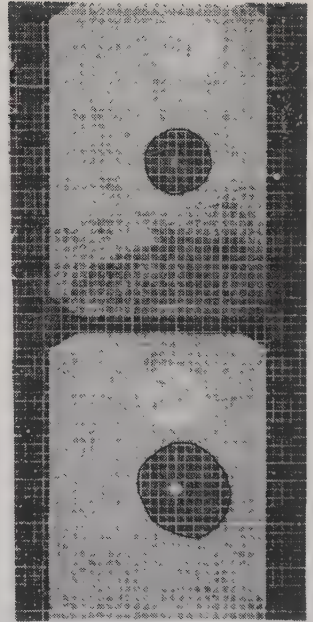


Abb. 18 Applikation des Tropfens mit Tropfpipette

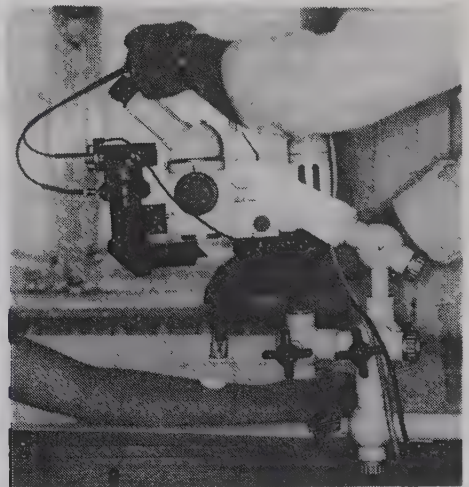


Abb. 20 Fotoapparat zur standardisierten Fixierung der Tropfengröße

fixierten Glasblöcken, die vorher saubergetupft werden mußten, abgedeckt. Nach weiteren 10 Minuten wurde erneut abgetupft und kontrolliert und - wenn keine Reaktion vorlag - das mittlere und proximal gelegene Feld erneut für 10 Minuten mit einem Tropfen Natronlauge versehen. Nach Abschluß der Untersuchung wurden alle drei Felder mit reichlich destilliertem Wasser gründlich gesäubert.

Bei dieser Untersuchung wird also das distale Feld für 10 Minuten, das mittlere für 20 Minuten, das proximale für 30 Minuten der Natronlauge ausgesetzt, falls nicht eine vorzeitige Reaktion ein weiteres Belassen der NaOH auf der Haut überflüssig macht.

Bewertet wurde, ob eine der oben beschriebenen Reaktionen nach 10; 20 oder 30 Minuten Laugeneinwirkung oder gar nicht eintrat.

2.2.5 Bestimmung der Benetzbarkeit mit wäßrigen Lösungen (Spreitung)

Bei dieser Untersuchung wurde nach der ursprünglich von JACOBI angegebenen und später von SCHNEIDER und SCHULEIT (144), sowie von TRONNIER und JESSEN (169) modifizierten Methode vorgegangen.

Prinzip der Methode ist es, einen Tropfen einer wäßrigen Lösung von konstanter Größe auf die Haut zu bringen und die durch sein Breitfließen innerhalb einer bestimmten Zeit erreichte Vergrößerung der Fläche zu messen, die er zu benetzen imstande ist (Abb.17).

Als hydrophile Testlösung wurde wegen des Farbkontrastes eine 0,15 %ige wäßrige Lösung von Methylenblau benutzt. Die konstante Ausgangsgröße des Tropfens wurde mit einer Tropfpipette erreicht, die es ermöglicht, die Fallhöhe des Tropfens konstant bei 7,5 mm zu halten (Abb.18 und 20). Diese Fallhöhe soll so liegen, daß zwischen dem Abreißen des Tropfens von der Pipettenspitze und dem Auftreffen auf der Haut eine möglichst geringe Entfernung liegt.

Gemessen wurde die Tropfenbenetzungsfläche durch Photographieren senkrecht von oben aus konstant genauer Entfernung (Abb. 20). Es ist dabei anzumerken, daß auf diese Weise wegen der Krümmung des Tropfens infolge der Oberflächen- bzw. Grenzflächenspannung nicht die exakte Benetzungsfläche erfaßt wird, sondern der maximale Tropfenquerschnitt. Doch hat diese Methode den Vorteil, die Meßgröße sekundengenau festzuhalten. Der Fehler, der durch diese Meßmethode bedingt ist, geht bei seiner Geringfügigkeit überdies in alle Messungen gleich ein, so daß er sich weitestgehend eliminiert.

Untersuchungsstelle war bei allen Versuchspersonen die Beugeseite des linken Unterarmes etwa in der Mitte zwischen Hand- und Ellenbogengelenk. Behaarte Stellen wurden, wenn irgend möglich umgangen. Wenn dies nicht möglich war, wurde die Behaarung mechanisch und ohne zu schaben abgeschert. Der Arm wurde während der Untersuchung weitestgehend ruhiggestellt, da jede Bewegung, auch schon ein Zittern, die Spreitung des Tropfens stark vergrößerte.

Die Tropfengröße wurde bei den meisten Versuchspersonen zur Kontrolle der konstanten Ausgangsgröße unmittelbar nach der Applikation photographisch festgehalten; die Photographie des Meßwertes erfolgte genau 60 Sekunden nach der Applikation.

Die quantitative Auswertung dieser Untersuchung erfolgte durch Auszählung der Quadratmillimeter innerhalb der Tropfenfläche auf dem Filmnegativ unter das Millimeterpapier gelegt wurde (Abb. 19). Die absolute Tropfenfläche wurde durch Vergleichsphotos von Millimeterpapier ermittelt.

Die Ausgangsgröße des Tropfens wurde bei insgesamt 64 Versuchspersonen aus allen Kollektiven gemessen. Die Auswertung ergab - für den benutzten Abstand zwischen Pipettenspitze und Hautoberfläche von 7,5 mm - durchschnittlich 52 mm^2 Filmnegativ-Fläche bei einer maximalen Abweichung von 4 und einer Standardabweichung von $2,8 \text{ mm}^2$. Unterschiede zwischen den Kollektiven waren nicht nachzuweisen.

2.2.6 Thermometrische Untersuchung der Haut

A. Prinzip der Methode

Mittels kontaktloser Temperaturmessung wurde eine Ausgangstemperatur an der Meßstelle bestimmt, sowie - nach Abkühlen des Meßortes mit Eis - der Verlauf der Wiedererwärmung und der durch thermische Hyperaemie bedingten reaktiven Hyperthermie am Meßort.

B. Meßort

Meßort war bei allen Versuchspersonen die gleiche Stelle der Beugeseite des linken Unterarmes etwa 5 cm vom Ellenbogengelenk entfernt, wobei darauf geachtet wurde, daß im Bereich der Meßstelle keine Oberflächenvene verlief (Abb. 1).

C. Verwendete Instrumente und Materialien

- a. handelsübliches Bolometer ⁺)
- b. Kurvenschreiber (30 mm/min, auf das Bolometer geeicht: 100 % Ausschlag des Kurvenschreibers entsprachen 100 % Skalenumfang auf dem Bolometer-Meßinstrument)
- c. handelsübliche Stoppuhr
- d. Eiskwürfel (ca. $-9^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

D. Methode

Nach der obligatorischen Adaptation der Versuchsperson, bei der die Meßstelle bekleidungsfrei und markiert ist (30 Minuten, 25°C , 45 % relative Luftfeuchtigkeit), wurde mit dem Meßkopf des Bolometers die Ausgangstemperatur T_A am angegebenen Meßort bestimmt, wobei Oberflächenvenen nach eingehender Inspektion und nach thermischer Kontrolle

⁺) Typ 1605, Fa. Helmann GmbH, Wiesbaden

(Temperaturerhöhung) umgangen wurden. Auf der Temperaturskala des Bolometers wurde diese Temperatur mit einem Stellzeiger fixiert.

Dann wurde ein Eiswürfel von -9°C für genau 5 Minuten auf die Meßstelle gelegt, wobei darauf geachtet wurde, daß das wärmere Schmelzwasser ständig ablaufen konnte und daß die Durchblutung an der Meßstelle nicht durch Druck behindert war. Nach Beendigung der Kühlzeit wurde das Eis entfernt, eine Stoppuhr in Gang gesetzt und das verbliebene Schmelzwasser auf der Meßstelle rasch mit einem weichen Zellstofftuch abgetupft (sonst Beeinträchtigung der Wiedererwärmung durch Verdunstungskälte!) und schließlich der Meßkopf des Bolometers ca. 0,5 bis 1 mm über die Meßstelle geschwenkt (Abb. 21).

Abb. 21

Thermometrie:
Meßstelle und
Lage des Meß-
kopfes

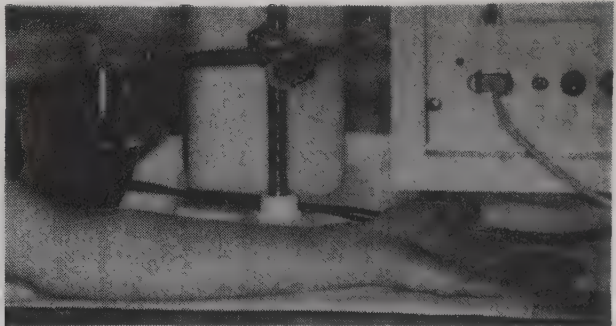
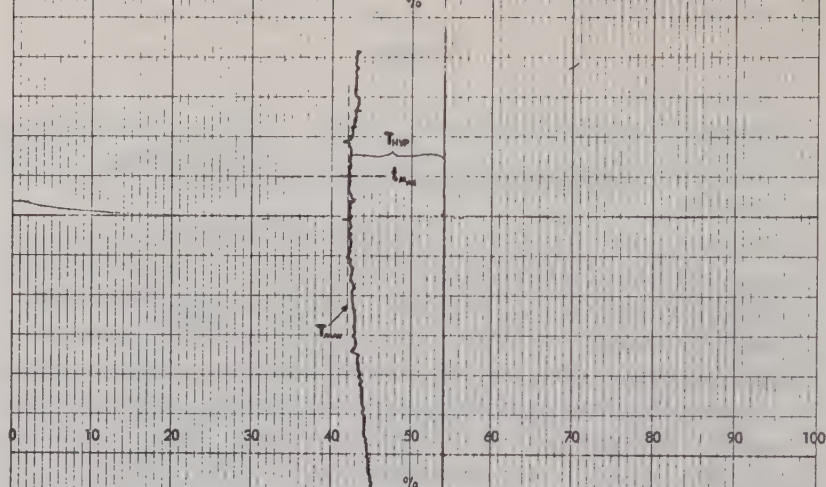


Abb. 22

Thermometrie:
Übersicht über
die Meßapparatur
von links: Meß-
kopf, Bolometer,
automatischer
Kurvenschreiber





Zb 271

430-51

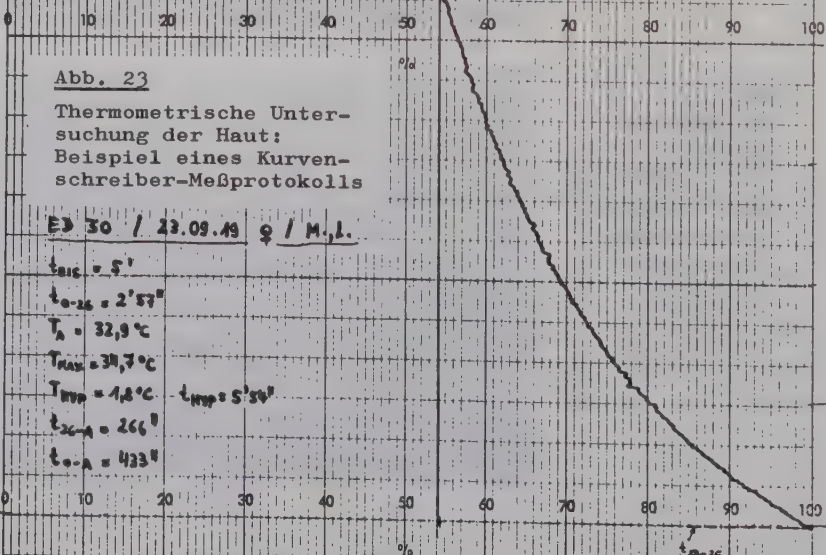


Abb. 23

Thermometrische Unter-
suchung der Haut:
Beispiel eines Kurven-
schreiber-Meßprotokolls

EB 30 / 23.09.49 $\varnothing$ / M., L.

$t_{0-15} = 5'$

$t_{0-25} = 2'53''$

$T_A = 32,9^\circ\text{C}$

$T_{max} = 39,3^\circ\text{C}$

$T_{min} = 18^\circ\text{C}$

$t_{25-4} = 266''$

$t_{0-4} = 433''$

$t_{hyp} = 5'54''$

Zb 271

430-51

Mit der Stoppuhr wurde die Zeit t_{0-26} vom Ende der Abkühlung bis zum Wiedererreichen von $26,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Beginn des Meßbereichs der Temperaturskala des Bolometers) gemessen. Bei dieser Temperatur wurde zugleich der automatische Schreiber in Gang gesetzt, der den weiteren Temperaturverlauf über der Zeit aufzeichnete, bis die Temperatur am Meßort eindeutig einen Maximalwert T_{Max} erreichte.

Das Protokollblatt des automatischen Schreibers (Beispiel einer solchen Temperaturkurve ist in Abb. 23 dargestellt) enthielt den Ausgangswert der Temperatur T_A und die mit der Stoppuhr gemessene Zeit t_{0-26} , sowie die persönlichen Daten der Versuchsperson als handschriftliche Eintragung. Alle anderen Meßwerte konnten der aufgezeichneten Meßkurve auf dem Protokollblatt entnommen werden:

T_{Max} = maximale Temperatur am Meßort

T_{Hyp} = maximale reaktive Temperaturerhöhung
($T_{\text{Max}} - T_A$)

t_{26-27} = Zeit von $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $27\text{ }^{\circ}\text{C}$

t_{27-28} = Zeit von $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ u.s.w.

t_{26-A} = Zeit von $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zum Wiedererreichen von T_A

t_{0-A} = Summe aus t_{0-26} und t_{26-A}

t_{Hyp} = Zeit von T_A bis T_{Max}

In Abb. 24 ist die Temperatur/Zeit-Kurve (nicht maßstabsgetreu!) während des gesamten Versuches skizziert, wobei die unterbrochenen Teile der Kurve nicht durch Meßdaten kontrolliert werden konnten, sondern nur einen mutmaßlichen, jedoch wahrscheinlichen Verlauf darstellen.

Der gerasterte Kurvenbereich ist Gegenstand der Untersuchung und wird im Ergebnisteil weiter unten für die einzelnen Kollektive noch einmal maßstabsgetreu graphisch dargestellt (Abb. 26).

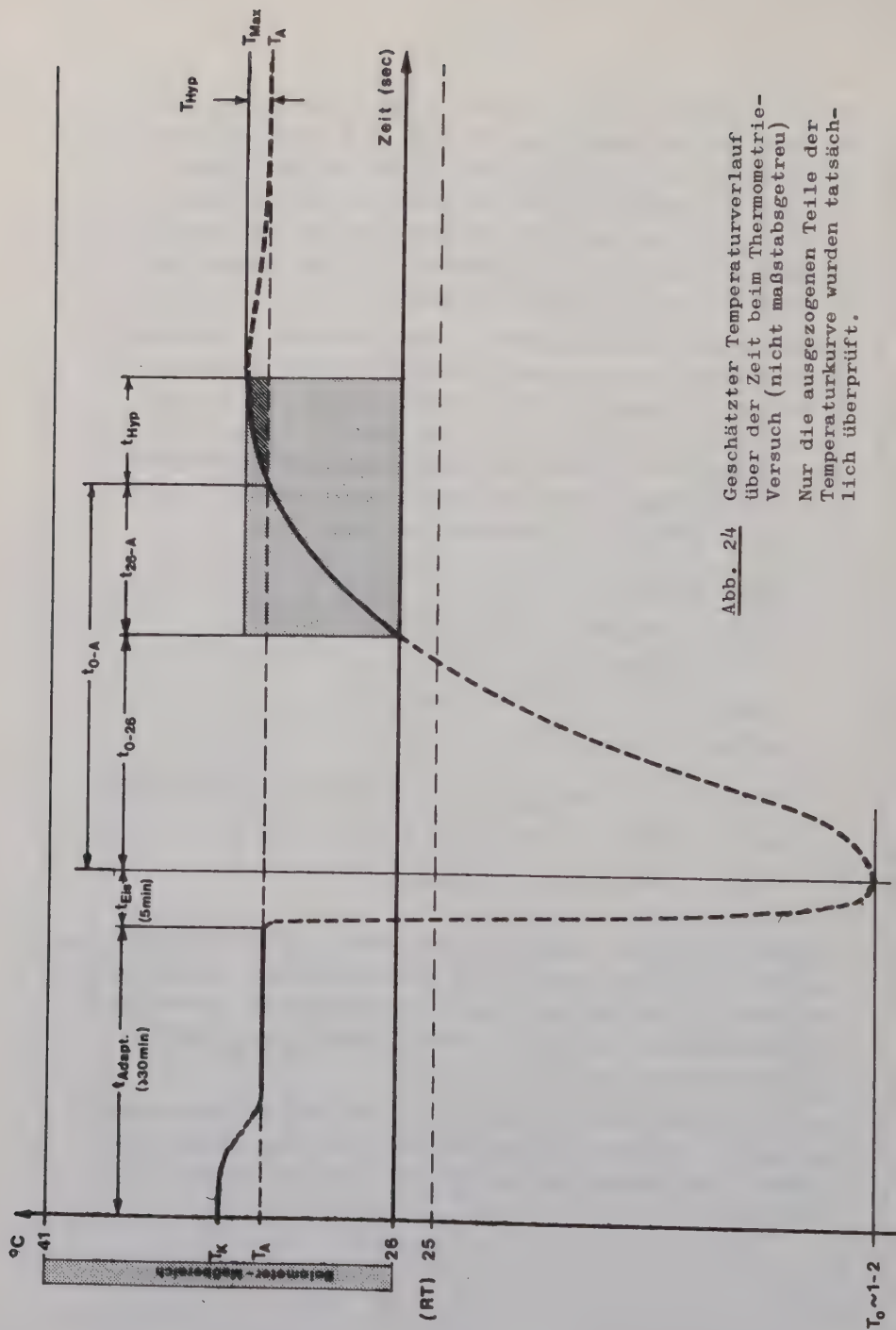


Abb. 24

Geschätzter Temperaturverlauf
über der Zeit beim Thermometrie-
Versuch (nicht maßstabgetreu)

Nur die ausgezogenen Teile der
Temperaturkurve wurden tatsäch-
lich überprüft.

2.3 Statistische Auswertungsmethoden

Neben den Vergleichen zwischen den beiden Diabetiker-Kollektiven MED bzw. NED und deren jeweilig entsprechenden Vergleichskollektiven wurden jeweils auch die beiden Diabetiker-Kollektive miteinander verglichen.

Innerhalb der Diabetikerkollektive wurde auch nach Korrelationen zwischen den Meßreihen und zwischen Meßreihen und Alter, Nüchternblutzuckerwerten und ggf. zur bekannten Dauer der diabetischen Stoffwechsellage gesucht. Diese Untersuchung blieb jedoch überall dort ohne Erfolg, wo eine Korrelation nicht durch die beschriebenen Auswahlkriterien der Versuchspersonen bewußt vorgegeben war.

Nullhypothese war bei allen statistischen Vergleichen die Annahme, die verglichenen Kollektive seien zufällige Stichproben einer einheitlichen Grundgesamtheit. Nullhypothese war also beim Vergleich von Meßwertpaaren gleicher Versuche bei verschiedenen Kollektiven die Annahme, die ermittelten Durchschnittswerte unterschieden sich nur zufällig; beim Vergleich von Meßwertreihen aus verschiedenen Versuchen innerhalb eines Kollektives die Annahme, die jeweiligen Meßwertpaare enthielten keine Korrelation. Die Nullhypothese wurde dort, wo α_2 angegeben ist, mit der maximalen Irrtumswahrscheinlichkeit α_2 in % verworfen. Wo α_2 nicht angegeben ist, mußte die jeweilige Nullhypothese beibehalten werden.

Der Vergleich von Meßwertreihen gleicher Versuchsanordnung aber aus verschiedenen Kollektiven (NED : NED-VK, MED : MED-VK und NED : MED) erfolgte über den U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY, ggf. auch mit Rangaufteilung (136, S.293-302). Zur Beurteilung von Korrelationen zwischen Meßreihen verschiedener Versuchsanordnungen innerhalb eines Kollektivs wurden die SPEARMAN'schen Rangkorrelationskoeffizienten ggf. mit Rangbindungen berechnet und mit 0 verglichen (136; S. 390-394).

Ausgenommen von diesen Vergleichen wurden die Versuchsergeb-

nisse der Alkaliresistenz-Bestimmung der Haut, deren Werte nach entsprechender Zusammenfassung von Gruppen mit dem Vierfelder- χ^2 -Test (136; S. 341-357) bzw. dem FISHER-Test (136; S. 365-367) hätten beurteilt werden können. Dies wäre aber, wie bei kritischer Schätzung offensichtlich war, ergebnislos geblieben.

Eine statistische Auswertung der Analysen des kollektivweise gepoolten Materials schließt sich schon von der Methodik (Pooling!) her aus.

3. Methodische Erfahrungen und Kritik

Die Erfahrungen mit der Lagerung von wäßrigem Eluat wurden bereits auf Seite 60 erwähnt. Ein höchstens einmaliges Einfrieren und Auftauen durch sofortiges Auftrennen des gewonnenen Eluates nach der Extraktion in die zur Analyse der einzelnen Methoden und die zur Poolung notwendigen Einzelmengen, sowie eine schnellstmögliche Analyse scheint unbedingt ratsam.

Zur Bestimmung der Milchsäure sollte nach einer einfacheren, wenn möglich enzymatischen Analysenmethode gesucht werden.

Die bei dieser Untersuchung benutzte Methode zur Bestimmung des Glycerins erwies sich als völlig unzulänglich, weil sie zu anfällig gegen Störungen durch Hautverunreinigungen ist, die beim Extrahieren mit ins Eluat gelangen. Es hat sich gezeigt, daß gerade die genaue Bestimmung des Glycerins unter Umständen wichtige Aussagen zum Fettstoffwechsel der Haut, speziell zur Aufspaltung der Triglyceride in Fettsäuren und Glycerin durch bakterielle Lipolyse und damit zum Quotienten aus freien Fettsäuren und Triglyceriden entscheidend beeinflussen oder erst ermöglichen kann (siehe S. 107).

Bei den thermometrischen Untersuchungen der Hautoberfläche hat sich ergeben, daß entscheidende Unterschiede in der Tem-

peratur/Zeit-Relation beim Wiedererreichen einer Ausgangstemperatur nach Kälteexposition der Haut im Bereich der unteren Temperaturen vorliegen müssen. Eine Möglichkeit, neben der reaktiven Hyperthermie auch den Ablauf der Temperatur/Zeit-Relationen im Bereich der unteren Temperaturen zu untersuchen, kann darüber Aufschluß geben. Dazu ist ein Bolometer mit einem Meß- und Anzeigebereich von 0...45 °C erforderlich.

Für eine genauere Beurteilung der Hautoberflächentemperatur als kausaler Faktor im Zusammenhang mit der Praedisposition der Diabetiker für Hautinfektionen wäre es auch erforderlich, entsprechende thermometrische Untersuchungen nicht nur an den Akren der Extremitäten oder an den Extremitäten, sondern im Bereich des Rumpfes, speziell auch im Bereich der Praedilektionsstellen dieser Infektionskrankheiten vorzunehmen.

4. Ergebnisse

4.1 Einzelergebnisse

Die Einzelergebnisse aller Versuche sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefaßt. Alle Versuchspersonen wurden nach Alter absteigend angeordnet.

Die Tabellen sind so angeordnet, daß die Einzelergebnisse aller vier Kollektive jeweils auf einer Seite übersichtlich miteinander zu vergleichen sind, wobei die Spalten der beiden Diabetikerkollektive MED (oben) und NED (unten) weiß, die ihrer jeweiligen Vergleichskollektive mit Raster unterlegt sind. Die Werte $\bar{m}_a$ (arithmetischer Mittelwert des Kollektivs) und s (Standardabweichung des Mittelwertes) liegen jeweils in der Mitte der Tabelle und zwischen ihnen liegt ein Feld, in dem das Signifikanzniveau α_1 in % für den Vergleich der jeweiligen Kollektive angegeben ist.

Zum Beispiel:

		MED	VK	
30	69	11	18	...
15	50	17	15	...
$\bar{m}_a$		15,2	17,9	...
s		2,1	2,4	...
α_1 (%)		0,1	2	
		1		
s		12,8	17,7	...
$\bar{m}_a$		1,9	2,3	...
01	48	12	17	...
40	63	13	18	...
		NED	VK	

MED : MED-VK $\alpha_1 = 2 \%$

NED : NED-VK $\alpha_1 = 1 \%$

MED : NED $\alpha_1 = 0,1 \%$

(Die Vergleichskollektive wurden selbstverständlich nicht miteinander verglichen!)

Tab. 1 Allgemeine Daten

Alter in Jahren, Geschlecht, enzymatisch bestimmter Nüchternblutzucker (ohne vorherige Diätanweisung, sofern nicht klinisch bereits Diät verordnet war), Diabetes-Krankheitsdauer, Diabetes-Medikation und Kohlehydrat-Diät, falls verordnet (1200 kcal/die), ggf. Bemerkungen.

VP-Nr.		ALTER		GESCHL.		enz.NBZ		KR.-D.	MEDIKATION	BEMERKUNGEN
		(Jahre)				(mg%)		(Jahre)		
05	48	80	79	m	m	120	70	1	oral	
09	63	78	78	f	f	210	90	10	Ins.	
14	29	74	74	f	f	226	70	17	Ins.+oral	
16	23	72	72	f	f	118	60	9	Ins.	
34	41	72	73	m	m	144	80	15	oral	Marcumar
32	52	71	72	f	f	200	81	2	oral	
20	51	69	68	f	f	188	76	6	oral	
06	38	68	68	f	f	115	80	16	oral	
26	60	67	68	f	f	175	85	1	Ins.+oral	Marcumar
17	45	66	65	m	m	220	70	4	Ins.+oral	
21	37	66	66	m	m	188	70	6	Ins.	
25	46	65	66	f	f	104	93	17	Ins.+oral	
11	67	64	64	f	f	237	83	18	Ins.+oral	
12	53	64	64	f	f	120	80	17	oral	
10	43	63	63	m	m	155	70	1	Ins.	Marcumar
19	64	63	63	f	f	169	80	10	oral	
24	47	63	63	f	f	100	60	3	Ins.+oral	
33	58	63	63	f	f	125	75	18	Ins.+oral	
35	66	63	63	f	f	270	70	7	Ins.+oral	
22	49	62	62	f	f	210	65	12	Ins.+oral	
31	42	60	61	f	f	180	85	14	oral	
13	54	60	61	f	f	100	75	15	Ins.+oral	Marcumar
07	55	59	59	f	f	135	67	13	oral	
27	39	59	60	m	m	230	90	17	oral	
30	69	54	54	f	f	200	60	10	oral	
15	50	44	45	f	f	135	65	1	oral	
$\bar{m}_s \rightarrow$		65,0	65,2			168	75	10,0		
$s \rightarrow$		7,4	7,2			49	9,5	6,0		
α_2 (%)										
$s \rightarrow$		8,7	8,3			53	10,7			
$\bar{m}_s \rightarrow$		64,8	64,6			215	74			
01	48	80	79	m	m	360	70			
40	63	78	78	f	f	196	90			
56	52	73	72	f	f	220	81			Diät KH 1200
02	74	72	72	m	m	230	70			Diät KH 1200
62	71	71	70	f	f	305	60			
18	51	68	68	f	f	160	76			
28	38	68	68	f	f	230	80			
70	46	66	66	f	f	190	93			
61	47	63	63	f	f	240	60			Diät KH 1200
36	42	61	61	f	f	170	85			
57	55	59	59	f	f	180	67			
65	73	57	57	f	f	210	85			Diät KH 1200
03	04	56	57	m	m	170	70			Diät KH 1200
68	72	56	56	f	f	215	70			
59	69	54	54	f	f	185	60			Diät KH 1200
08	44	53	53	m	m	180	65			Diät KH 1200

VP-Nr.		GESAMTLIPIDE		CHOLESTERIN		FR. FETTSRN.		TRIGLYCERIDE	
		(µg/cm ²)		(%)		(%)		(%)	
05	48	60,8	51,1	13,1	10,0	23,4	26,0	29,2	32,2
09	63	88,8	77,9	16,3	2,1	17,5	21,1	31,6	36,1
14	29	47,2	134,7	13,1	8,6	26,7	10,8	26,1	43,8
16	23	135,8	90,2	5,3	3,8	31,4	39,0	25,9	17,8
34	41	128,3	79,0	11,3	12,3	20,0	26,0	38,2	28,8
32	52	37,9	219,5	11,9	7,3	14,0	26,8	43,5	37,0
20	31	16,9	197,6	22,9	5,5	14,0	31,3	43,3	25,1
06	38	44,1	58,4	12,1	11,1	17,6	23,9	35,6	30,5
26	60	110,1	48,2	11,4	4,2	15,8	13,9	38,9	37,9
17	45	88,1	52,6	6,6	14,9	27,4	22,9	22,8	31,5
21	37	136,0	132,1	6,8	9,0	20,8	41,0	42,4	17,9
25	46	27,7	44,1	26,5	14,5	22,8	25,7	16,0	30,7
11	67	61,8	90,3	6,6	3,8	22,2	11,3	31,7	41,7
12	53	79,9	68,6	7,3	11,5	22,3	20,0	28,5	38,9
10	43	65,9	34,6	11,8	11,2	17,0	21,4	36,3	35,0
19	64	83,6	98,4	8,3	3,6	15,9	13,3	46,9	38,8
24	47	29,1	36,8	12,7	11,2	12,4	18,4	43,9	33,4
33	58	109,3	92,7	8,2	4,3	21,4	15,2	38,3	41,9
35	66	26,9	124,5	17,5	3,7	17,8	12,2	36,8	41,0
22	49	137,5	116,7	7,9	11,6	25,0	20,5	35,7	34,7
31	42	116,7	37,4	13,8	12,7	12,9	24,9	41,2	29,1
13	54	46,2	33,5	16,5	11,4	7,7	22,4	41,3	32,3
07	35	35,0	160,3	9,1	12,7	18,4	22,4	35,4	36,8
27	39	56,8	25,0	10,7	7,5	23,2	31,7	37,6	22,7
30	69	46,6	98,2	13,6	3,2	16,7	21,3	37,4	33,0
15	50	127,4	84,8	8,1	10,1	29,0	23,1	26,5	33,8
$\bar{m}_a \rightarrow$		74,8	88,0	11,9	8,5	19,7	22,6	35,0	33,2
$s \rightarrow$		39,3	50,4	5,0	3,9	5,6	7,6	7,5	6,8
α_2 (%)				2 2 0,1		2		5 2	
$s \rightarrow$		34,0	57,1	4,3	4,3	6,6	4,1	6,3	3,6
$\bar{m}_a \rightarrow$		75,0	90,0	15,2	8,4	25,2	22,7	28,0	33,7
01	48	31,0	51,1	11,3	10,0	22,6	26,0	25,6	32,2
40	63	127,8	77,9	12,1	2,1	18,2	21,1	42,0	36,1
56	52	85,9	219,5	18,1	7,3	29,7	26,8	21,7	37,0
02	74	80,2	90,9	12,0	5,2	14,8	19,7	33,4	36,2
62	71	88,8	108,4	12,8	3,9	25,8	21,5	26,5	35,1
18	31	23,3	197,6	23,1	5,5	12,7	31,3	34,6	25,1
28	38	57,4	58,4	23,9	11,1	29,7	23,9	21,6	30,5
70	46	150,5	44,1	15,6	14,5	30,8	25,7	25,0	30,7
61	47	72,4	36,8	16,5	11,2	27,4	18,4	27,0	33,4
36	42	34,0	37,4	18,8	12,7	23,7	24,9	25,8	29,1
57	55	62,2	160,3	12,6	12,7	33,5	22,4	27,5	36,8
65	73	98,5	93,1	13,2	5,0	31,2	22,4	23,4	35,4
03	04	62,9	36,2	12,1	13,3	31,1	12,7	20,6	37,6
68	72	52,0	83,2	15,9	4,0	32,2	21,9	24,0	38,5
59	69	76,5	98,2	16,4	3,2	20,6	21,3	38,9	33,0
08	44	96,4	47,0	7,9	13,1	19,3	23,2	30,8	32,3

VP-Nr.		WACHSESTER		SQUALENE		PARAFFINE		FFA / TG	
		(%)		(%)		(%)			
05	48	21,9	21,5	6,5	8,0	5,9	2,4	0,80	0,81
09	63	15,7	20,1	8,5	16,2	10,4	4,4	0,55	0,58
14	29	22,3	16,8	4,4	6,0	7,4	14,1	1,02	0,25
16	23	22,0	24,9	10,9	8,6	2,1	5,9	1,21	2,19
34	41	20,7	19,6	6,6	6,8	3,2	6,5	0,53	0,90
32	52	19,1	19,7	6,2	7,4	5,3	1,8	0,32	0,73
20	51	6,9	22,1	5,9	12,0	6,9	4,1	0,32	1,24
06	38	16,1	20,9	10,9	10,6	7,8	3,0	0,49	0,78
26	60	15,5	15,4	14,4	26,0	4,0	2,7	0,41	0,37
17	45	29,4	20,6	12,3	7,1	1,5	3,0	1,20	0,73
21	37	19,5	21,8	7,7	7,9	2,8	2,3	0,49	2,29
25	46	7,6	18,1	18,6	5,5	8,5	5,6	1,43	0,84
11	67	20,6	18,2	8,0	22,0	11,0	3,0	0,70	0,27
12	53	25,6	20,3	7,2	5,6	9,2	3,8	0,78	0,52
10	43	15,5	20,2	9,6	6,7	9,8	5,5	0,47	0,61
19	64	16,5	16,5	7,4	25,3	5,0	2,6	0,34	0,34
24	47	18,0	20,0	6,2	9,9	6,8	7,0	0,28	0,55
33	58	17,9	13,8	8,2	20,4	6,0	2,4	0,56	0,36
35	66	17,8	18,5	4,8	21,8	5,2	2,9	0,48	0,30
22	49	21,1	20,4	7,0	9,8	3,4	3,1	0,70	0,59
31	42	19,5	17,3	9,4	3,0	3,2	13,1	0,31	0,86
13	54	19,7	23,3	4,2	5,3	10,6	5,2	0,19	0,69
07	55	21,5	14,8	12,5	11,1	3,1	2,2	0,52	0,61
27	39	21,3	19,5	4,1	6,8	3,1	12,0	0,62	1,40
30	69	18,3	21,4	8,5	18,0	5,4	3,1	0,45	0,64
15	50	20,9	20,2	9,4	9,5	5,6	3,3	1,10	0,69
$\bar{m}_n \rightarrow$		18,9	19,5	8,4	11,4	5,9	4,8	0,63	0,77
$s \rightarrow$		4,6	2,4	3,4	6,7	2,8	3,4	0,32	0,51
α_2 (%)		5		2		5		1	
		1		5		5		5	
$s \rightarrow$		3,7	2,1	2,5	4,1	3,1	2,7	0,39	0,20
$\bar{m}_n \rightarrow$		16,3	19,6	10,6	11,3	4,7	4,3	0,97	0,69
01	48	22,3	21,5	7,9	8,0	10,2	2,4	0,88	0,81
40	63	18,0	20,1	7,3	16,2	2,5	4,4	0,43	0,58
56	52	17,4	19,7	10,0	7,4	3,1	1,8	1,37	0,73
02	74	17,6	19,4	10,2	15,4	12,0	4,1	0,44	0,54
62	71	20,0	23,4	12,2	12,7	2,7	3,3	0,98	0,61
18	51	10,3	22,1	11,5	12,0	7,8	4,1	0,37	1,24
28	38	11,1	20,9	9,3	10,6	4,5	3,0	1,38	0,78
70	46	15,7	18,1	10,7	5,5	2,2	5,6	1,23	0,84
61	47	18,5	20,0	8,4	9,9	2,2	7,0	1,02	0,55
36	42	12,7	17,3	12,4	3,0	6,6	13,1	0,92	0,86
57	55	11,3	14,8	12,1	11,1	3,0	2,2	1,22	0,61
65	73	18,6	19,4	10,8	14,6	2,8	3,3	1,33	0,63
03	04	20,7	19,3	11,1	14,0	4,4	3,0	1,51	0,34
68	72	17,0	18,1	9,0	14,4	2,0	3,2	1,34	0,57
59	69	12,2	21,4	8,8	18,0	3,2	3,1	0,53	0,64
08	44	17,7	18,0	17,9	8,3	6,4	5,2	0,63	0,72

← rückseitig

Tab. 2 Hautoberflächenlipide

Gesamtlipide in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ extrahierter Hautoberfläche und deren prozentuale Aufschlüsselung in Lipidfraktionen nach Dünnschicht-Chromatographie, sowie das Verhältnis Freie Fettsäuren zu Triglyzeriden (FFA/TG)

Tab. 3 Gesamtlipidmenge und Fraktionsanteile an den Gesamtlipiden (Kollektiv-Mittelwerte)

	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Fraktionsanteile (%) a.d. GL						FFA/TG
	GL	CH	FFA	TG	WE	SQU	PAR	
MED-VK	88,0	8,5	22,6	33,2	19,5	11,4	4,8	0,77
MED	74,8	11,9	19,7	35,0	18,9	8,4	5,9	0,63
NED	75,0	15,2	25,2	28,0	16,3	10,6	4,7	0,97
NED-VK	90,0	8,4	22,7	33,7	19,6	11,3	4,3	0,70

Tab. 4 Abweichung der Diabetiker-Werte aus Tab. 3 gegenüber den der zugehörigen Vergleichskollektive in %

	GL	CH	FFA	TG	WE	SQU	PAR	FFA/TG
MED:VK	- 15	+ 40	- 13	+ 5	- 3	- 26	+ 23	- 19
NED:VK	- 17	+ 81	+ 11	- 17	- 17	- 6	+ 9	+ 39

Tab. 5 Analyse des sogenannten Wasserlöslichen →

Analyse mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode, der Ferricyanid-Methode und der Ninhydrin-Methode, sowie - nach kollektivweiser Poolung - Bestimmung der Milchsäure und des Glyzerins. Alle Angaben sind in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ extrahierter Hautoberfläche angegeben und sind Äquivalente einer für jede Analyse speziellen Eichsubstanz.

(Anmerkung: Die Glyzerin-Analyse ergab kein auswertbares Meßergebnis, da die Methode zu störanfällig für verschiedene Verunreinigungen der Haut war!)

VP-Nr.		PHENOL-H ₂ SO ₄		FERRICYANID		NINHYDRIN		MILCHSÄURE	
		(μg / cm ²)		(μg / cm ²)		(μg / cm ²)		(μg / cm ²)	
05	48	0,462	1,375	0,299	0,196	15,00	12,94		
09	63	0,569	0,924	0,389	0,423	18,91	12,50		
14	29	0,940	0,977	0,416	0,313	9,38	16,07		
16	23	0,832	1,273	0,296	0,366	11,63	16,32		
34	41	0,763	1,015	0,395	0,315	16,01	13,35		
32	52	0,838	0,526	0,529	0,428	10,03	13,75		
20	51	1,192	1,181	0,622	0,196	23,19	8,91		
06	38	0,521	1,509	0,337	0,283	10,63	15,25		
26	60	0,596	1,901	0,433	0,157	22,88	11,41		
17	45	0,725	1,638	0,303	0,210	11,32	10,07		
21	37	0,763	1,971	0,331	0,154	10,85	8,28		
25	46	0,752	1,745	0,587	0,301	22,04	14,07		
11	67	0,730	1,498	0,334	0,475	12,41	11,47		
12	53	0,682	0,553	0,207	0,204	10,82	15,00		
10	43	0,494	1,063	0,306	0,200	12,47	11,41		
19	64	0,816	1,971	0,372	0,408	10,19	11,50		
24	47	0,822	0,666	0,174	0,182	12,19	8,66		
33	58	0,505	1,289	0,239	0,275	10,88	12,10		
35	66	1,042	1,606	0,581	0,504	18,88	11,16		
22	49	0,569	0,516	0,269	0,469	15,04	24,85		
31	42	1,095	1,273	0,209	0,384	10,88	6,19		
13	54	0,902	1,509	0,463	0,151	9,50	8,38		
07	55	0,832	1,359	0,412	0,298	14,35	17,26		
27	39	0,575	0,725	0,331	0,162	10,03	1,16		
30	69	1,063	1,208	0,552	0,354	22,01	12,19		
15	50	1,047	0,983	0,393	0,259	11,07	14,22		
$\bar{m}_s \rightarrow$		0,774	1,240	0,376	0,295	13,95	12,25	0,836	0,608
$s \rightarrow$		0,204	0,435	0,122	0,111	4,54	4,31	-	-
α_2 (%)		0,1		2		0,1			
		0,1				0,1			
$s \rightarrow$		0,161	0,424	0,112	0,117	6,31	4,22	-	-
$\bar{m}_s \rightarrow$		0,468	1,253	0,319	0,303	22,13	12,22	0,918	0,612
01	48	0,349	1,375	0,347	0,196	19,35	12,94		
40	63	0,376	0,924	0,366	0,423	30,32	12,50		
56	52	0,601	0,526	0,340	0,428	11,75	13,75		
02	74	0,682	1,407	0,376	0,376	23,19	20,04		
62	71	0,628	1,165	0,332	0,500	17,19	16,29		
18	51	0,440	1,181	0,169	0,196	22,19	8,91		
28	38	0,585	1,509	0,356	0,283	26,63	15,25		
70	46	0,242	1,745	0,091	0,301	32,67	14,07		
61	47	0,328	0,666	0,294	0,182	24,91	8,66		
36	42	0,510	1,273	0,478	0,384	28,13	6,19		
57	55	0,279	1,359	0,246	0,298	23,29	17,26		
65	73	0,661	1,015	0,395	0,454	19,76	9,10		
03	04	0,252	1,863	0,261	0,332	17,41	12,66		
68	72	0,703	0,768	0,545	0,121	20,57	3,38		
59	69	0,311	1,208	0,308	0,354	27,13	12,19		
08	44	0,532	2,067	0,203	0,256	9,60	12,38		

Tab. 6 Analyse des Wasserlöslichen (Kollektiv-Mittelwerte)
Signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven
sind durch fette Striche dargestellt. Angaben in
 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ Äquivalent der jeweiligen Eichsubstanz.-

	PHENOL	FERRIC.	NINHYDR.	LACTAT
MED-VK	1,240	0,295	12,25	0,608
MED	0,774	0,376	13,95	0,836
NED	0,468	0,319	22,13	0,918
NED-VK	1,253	0,303	12,22	0,612

Tab. 7 Prozentuale Abweichung der Diabetiker-Werte aus
Tab. 6 gegenüber den der jeweiligen Vergleichs-
kollektive

	PHENOL	FERRIC.	NINHYDR.	LACTAT
MED:VK	- 38 %	+ 27 %	+ 14 %	+ 38 %
NED:VK	- 63 %	+ 5 %	+ 81 %	+ 50 %



Tab. 8 Aminosäuren (quantitative Analyse mit Autoanalyzer)

Da die Doppelfraktion Prolin/Citrullin quantitativ nicht aufzutrennen war, jedoch unterschiedliches Molekulargewicht aufweist, war die Gesamtsumme in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ extrahierter Hautoberfläche nicht zu ermitteln und die prozentualen Anteile mußten auf die Angaben der Einzelfraktionen in nMol/cm^2 extrahierter Hautoberfläche bezogen werden

AMINOSÄURE	MED	MED-VK	NED	NED-VK	MED	MED-VK	NED	NED-VK	MED	MED-VK	NED	NED-VK
	(μg/cm ²)				(nMol/cm ²)				(% von ΣnMol)			
	MolGew.											
Asparaginsre.	134,1	0,059	0,059	0,091	0,079	0,441	0,441	0,586	3,4	4,3	3,9	7,5
Threonin	120,1	0,101	0,085	0,168	0,079	0,844	0,710	0,661	6,4	6,9	8,0	8,4
Serin	106,1	0,264	0,227	0,324	0,212	2,485	2,137	2,018	18,9	20,9	17,5	25,8
Glutaminsre.	148,1	0,050	0,033	0,058	0,024	0,340	0,220	0,161	2,6	2,2	2,2	2,1
Prolin	116,1	?	?	?	?	1,636	1,200	0,966	12,5	11,7	13,4	12,4
Citrullin	176,2	?	?	?	?	2,343	1,559	0,971	17,9	15,2	15,6	12,4
Glycin	76,1	0,178	0,119	0,206	0,074	1,892	1,513	0,891	14,4	14,8	14,2	11,4
Alanin	90,1	0,170	0,136	0,224	0,080	Spur	Spur	Spur	-	-	-	-
Cystein	122,2	Spur	Spur	Spur	Spur	0,479	0,459	0,661	3,7	4,5	3,8	3,6
Valin	118,2	0,057	0,054	0,078	0,034	0,033	0,011	0,062	0,2	0,1	0,4	0,2
Methionin	150,2	0,005	0,002	0,009	0,002	0,255	0,160	0,355	1,9	1,6	2,0	1,9
Iso-Leucin	132,2	0,034	0,021	0,047	0,019	0,241	0,149	0,301	1,8	1,5	1,7	1,7
Leucin	132,2	0,032	0,020	0,040	0,018	0,171	0,111	0,192	1,3	1,1	1,1	1,2
Phenylalanin	166,2	0,028	0,018	0,032	0,015	0,273	0,214	0,478	2,1	2,1	2,7	2,6
Thyrosin	182,2	0,050	0,039	0,087	0,037	0,665	0,325	0,831	5,1	3,2	4,8	1,4
Histidin	156,2	0,104	0,051	0,130	0,017	0,128	0,076	0,340	1,0	0,7	1,9	0,8
Ornithin	133,2	0,017	0,010	0,045	0,008	0,168	0,177	0,321	1,3	1,7	1,8	1,8
Lysin	147,2	0,025	0,026	0,047	0,020	0,385	0,336	0,394	2,9	3,3	2,3	1,7
Ammoniumvbds	?					0,339	0,425	0,472	2,6	4,2	2,7	3,1
Arginin	175,2	0,059	0,075	0,083	0,043	13,118	10,223	7,816	100,0	100,0	100,0	100,0
					Σ							

VP-Nr.		ERSTE REAKTION NACH						OHNE		FLÄCHE (mm ²) NACH			
		10 min		20 min		30 min		REAKTION		0 sec.		60 sec.	
05	48			+				+		-	56	45	99
09	63	+	+							-	55	87	85
14	29				+	+				56	54	40	68
16	23				+	+				49	49	47	70
34	41		+	+						48	53	33	60
32	52				+			+		56	55	95	53
20	51							+	+	53	50	57	100
06	38				+			+		56	48	35	44
26	60				+			+		50	49	57	78
17	45			+					+	52	49	89	46
21	37		+					+		54	50	54	64
25	46							+	+	55	56	68	90
11	67				+			+		-	53	91	65
12	53		+					+		55	-	65	58
10	43			+					+	-	51	37	57
19	64			+	+					55	54	94	61
24	47	+							+	50	54	54	91
33	58							+	+	51	-	60	84
35	66							+	+	49	52	107	53
22	49							+	+	50	-	52	109
31	42			+	+					56	50	102	69
13	54			+					+	54	-	74	63
07	55			+					+	-	51	69	93
27	39							+	+	49	56	45	73
30	69							+	+	56	48	71	51
15	50					+	+			55	-	62	119
$\bar{m}_n \rightarrow$		2	4	8	8	3	1	13	13	53	52	65	73
s										3,0	2,8	22	20
α_2 (%)													
s										26	29	15	19
$\bar{m}_n \rightarrow$		1	2	5	5	2	1	8	8	51	52	69	73
01	48			+					+	53	56	77	99
40	63		+			+				48	55	61	85
56	52			+	+					52	55	97	53
02	74							+	+	53	54	76	-
62	71	+							+	48	49	53	72
18	51							+	+	54	50	86	100
28	38				+			+		52	48	70	44
70	46							+	+	55	56	61	90
61	47							+	+	49	54	60	91
36	42				+			+		48	50	54	69
57	55			+					+	49	51	83	93
65	73			+			+			56	53	76	-
03	04		+					+		53	48	84	51
68	72					+			+	51	53	51	67
59	69				+			+		51	48	67	51
08	44			+	+					50	51	40	63

Tab. 9 Alkali-resistenz-Bestimmung (linke Seitenhälfte)

Die Mittelwertzeile dieser Tabelle enthält die Anzahl der Versuchspersonen, die nach jeweils 10, 20 bzw. 30 Minuten Einwirkungszeit die erste Hautreaktion aufwies, in der Spalte danach die Anzahl der Versuchspersonen ohne jegliche Hautreaktion nach 30 Minuten Einwirkungszeit. Eine statistische Untersuchung dieser Ergebnisse erübrigte sich nach oberflächlicher Abschätzung.-

Tab. 10 Benetzbarkeit mit wäßrigen Lösungen (Spreitung)

Die angegebene Fläche in mm^2 entspricht der Vergleichsfläche auf dem Filmnegativ. Gemessen wurde die benetzte Hautoberfläche jeweils unmittelbar nach dem Applizieren und nach 60 Sekunden. Bei einigen Versuchspersonen konnte die Ausgangsfläche nicht sofort nach dem Auftragen des Tropfens festgehalten werden; diese Werte wurden nicht mit in die Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen einbezogen.-

VP-Nr.		NEUTRALISATIONSZEIT (sec) nach Messung Nr.:									
		1		2		3		4		5	
05	48	11	6	64	20	145	38	160	59	330	35
09	63	9	10	26	64	65	115	105	189	176	254
14	29	8	12	31	54	57	136	108	163	165	215
16	23	5	2	7	4	15	5	26	13	36	17
34	41	3	10	8	65	17	158	60	231	77	255
32	52	3	5	10	16	29	26	84	61	169	82
20	51	7	4	22	11	50	34	87	56	108	74
06	38	5	11	13	75	16	106	41	218	87	339
26	60	4	10	6	59	7	105	15	181	21	251
17	45	7	9	27	16	91	53	167	92	205	202
21	37	6	3	29	42	84	110	117	176	191	219
25	46	5	6	8	17	13	46	22	41	39	93
11	67	5	9	10	49	17	102	18	171	40	225
12	53	7	5	17	19	57	52	109	136	160	177
10	43	7	4	26	33	66	91	112	119	168	188
19	64	12	8	46	24	99	96	214	128	163	160
24	47	6	7	13	17	22	25	62	53	126	69
33	58	6	6	17	16	50	86	69	105	125	131
35	66	3	6	7	8	16	21	11	57	12	78
22	49	6	10	12	26	35	48	100	93	83	123
31	42	5	9	20	42	74	110	86	169	103	172
13	54	11	7	30	15	106	30	231	43	282	68
07	55	8	5	14	7	28	19	70	45	138	62
27	39	5	9	16	25	63	89	88	176	92	203
30	69	7	3	14	5	33	16	113	36	158	55
15	50	3	9	5	18	14	97	11	152	13	199
$\bar{m}_a \rightarrow$		6	7	19	29	49	70	88	114	126	152
s		2	3	9	21	35	42	59	64	79	83
α_2 (%)											
		5									
s		2	3	3	20	5	42	13	70	27	93
$\bar{m}_a \rightarrow$		6	7	15	29	33	70	69	115	115	151
01	48	4	6	12	20	31	38	54	59	105	35
40	63	5	10	10	64	43	115	90	189	118	254
56	52	8	5	19	16	41	26	89	61	153	82
02	74	5	6	14	29	38	113	78	185	104	226
62	71	5	4	15	24	33	112	66	169	104	198
18	51	8	4	15	11	30	34	66	56	130	74
28	38	6	11	17	75	28	106	66	218	154	339
70	46	4	6	10	17	25	46	51	41	74	93
61	47	6	7	16	17	33	25	69	53	115	69
36	42	3	9	16	42	27	110	45	169	66	172
57	55	7	5	19	7	39	19	84	45	132	62
65	73	5	7	14	35	30	115	65	194	94	268
03	04	9	14	18	28	29	36	73	50	145	91
68	72	4	4	12	16	27	104	55	151	85	178
59	69	6	9	17	49	35	102	74	171	117	225
08	44	5	5	20	8	37	11	81	30	145	49

NEUTRALISATIONSTZEIT (sec) nach Messung Nr.:										M _a	
6		7		8		9		10		(sec)	
258	41	390	88	398	120	471	126	583	108	281	64
275	315	284	352	276	453	296	523	305	573	182	285
203	253	331	228	221	296	196	342	237	252	156	195
36	24	51	15	44	42	68	37	98	41	39	20
124	355	113	361	194	503	92	575	211	605	90	312
118	107	190	180	244	235	294	301	332	320	147	133
274	71	78	59	134	82	206	67	295	87	126	55
100	262	126	310	186	391	244	430	334	413	115	256
24	287	25	340	35	408	42	464	132	522	31	263
251	178	354	220	391	176	410	201	475	238	238	139
299	330	268	445	330	490	462	520	415	500	220	284
61	111	61	166	150	229	135	295	121	245	62	125
52	287	86	324	69	379	147	434	118	442	56	242
221	236	290	252	250	371	245	472	285	511	164	223
224	226	268	276	319	296	253	242	362	371	181	185
247	217	309	292	384	354	370	418	530	436	237	213
278	91	271	77	303	52	343	79	530	98	195	57
72	157	143	116	138	147	211	182	246	204	108	115
19	87	9	107	25	147	37	168	50	186	19	87
234	178	285	201	356	302	395	358	315	406	182	175
75	244	141	337	195	409	251	485	351	630	130	261
332	98	217	123	320	161	371	185	352	168	225	90
168	81	234	83	171	145	197	159	320	171	135	78
121	289	164	238	231	331	330	462	412	545	152	237
201	65	181	82	277	103	329	116	451	127	176	61
41	271	20	242	99	321	96	375	167	358	47	204
166	187	188	212	221	267	250	308	309	329	142	168
99	100	112	114	113	139	126	163	142	179		
37	107	50	111	55	131	55	157	72	182		
154	185	174	213	233	266	285	309	334	328	142	167
132	41	156	88	205	120	249	126	273	108	122	64
127	315	177	352	199	453	239	523	332	573	134	285
219	107	228	180	313	235	376	301	459	320	191	133
138	316	224	315	267	377	306	450	389	476	156	249
155	264	151	267	227	307	284	340	333	363	137	205
159	71	145	59	241	82	280	67	299	87	137	55
141	262	156	310	221	391	239	430	288	413	132	256
118	111	104	166	144	229	196	295	214	245	94	125
169	91	173	77	234	52	286	79	334	98	144	57
75	244	106	337	143	409	224	485	230	630	94	261
207	81	216	83	282	145	334	159	379	171	170	78
140	338	136	355	204	432	268	529	310	573	127	285
171	65	254	156	305	203	361	187	395	106	176	94
126	251	110	239	174	272	239	319	282	340	111	187
178	287	190	324	247	379	297	434	360	442	152	242
203	114	257	102	323	170	381	216	466	301	192	101

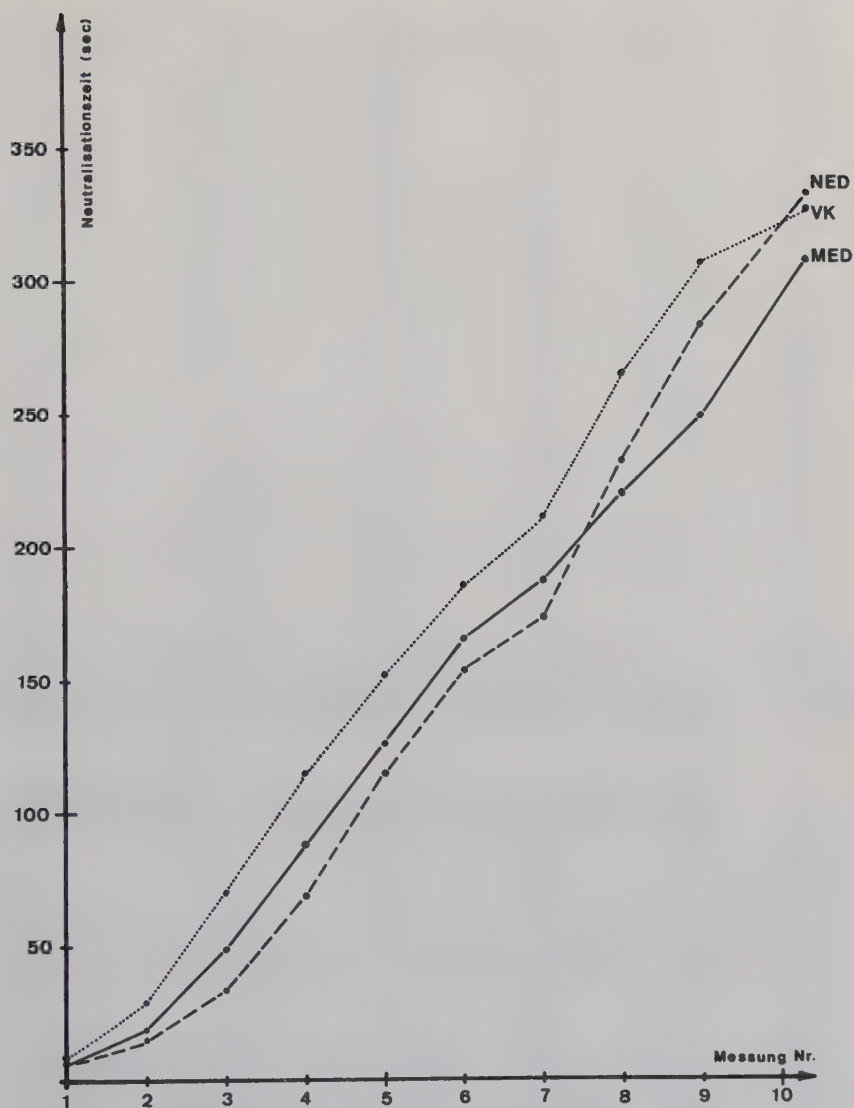
← rückseitig

Tab. 11 Alkalineutralisations-Kapazität der Hautoberfläche
Neutralisationszeiten von jeweils 10 unmittelbar aufeinanderfolgenden Messungen pro Versuchsperson und der arithmetische Mittelwert dieser 10 Meßwerte (letzte Doppelspalte) in Sekunden

Abb. 25 Alkalineutralisationszeiten

→
Arithmetischer Mittelwert der jeweiligen 10 Meßwerte eines jeden Kollektivs in Sekunden

—————	MED (eingestellte Diabetiker)
-----	NED (nicht eingestellte Diabetiker)
.....	VK (Vergleichskollektive ohne diabet. Befund)



Tab. 12 Thermometrische Untersuchungen
(rechts und folgende zwei Seiten)



Tab. 13 Thermometrie (Kollektiv-Mittelwerte)
Signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven
sind durch fette Striche hervorgehoben

	t ₀₋₂₆ sec.	t _{26-A} sec.	t _{0-A} sec.	t _{Hyp} sec.	T _A °C	T _{Hyp} °C	T _{Max} °C
MED-VK	214	346	560	272	32,54	1,39	33,93
MED	240	623	864	161	33,32	0,52	33,84
NED	237	566	803	198	33,19	0,88	34,07
NED-VK	215	346	561	277	32,46	1,42	33,88

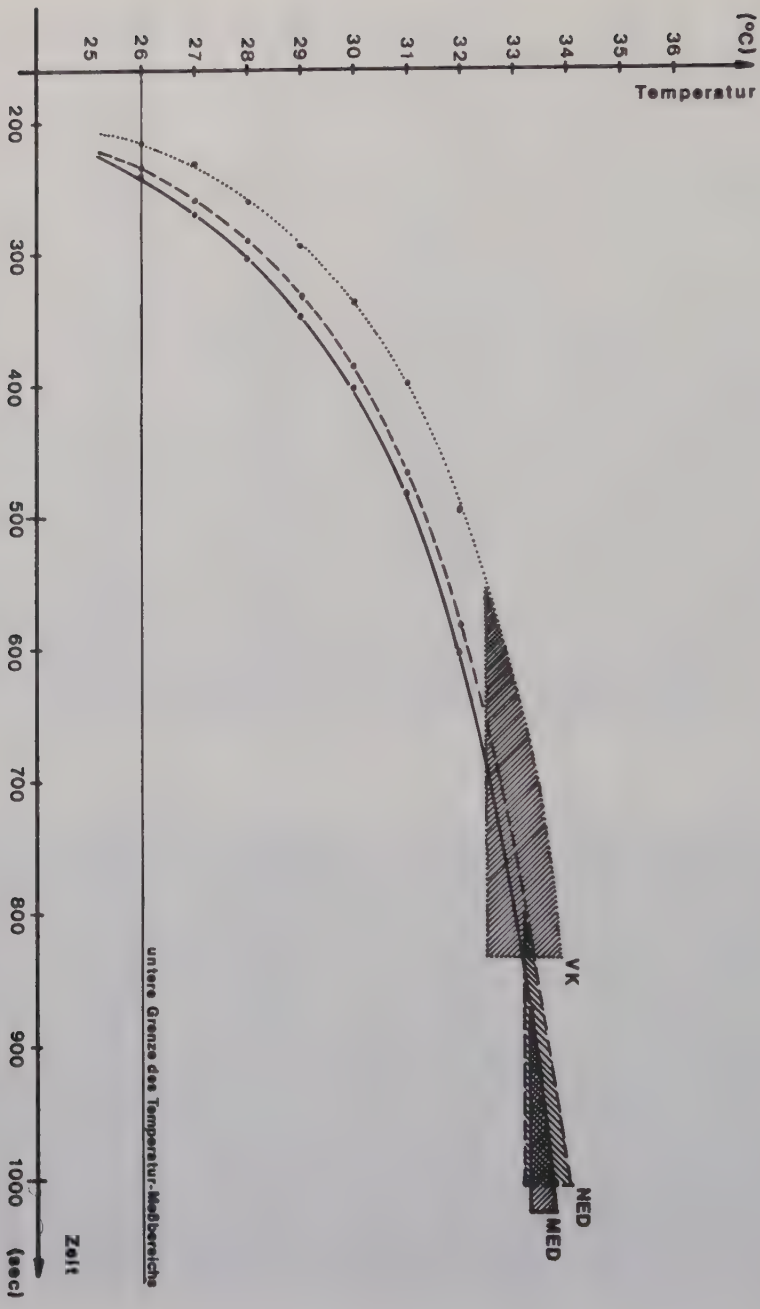
Tab. 14 Prozentuale Abweichung der Diabetiker-Werte aus
Tab. 13 gegenüber denen ihrer jeweiligen Ver-
gleichskollektive

	t ₀₋₂₆ sec.	t _{26-A} sec.	t _{0-A} sec.	t _{Hyp} sec.	T _A °C	T _{Hyp} °C	T _{Max} °C
MED:VK	+12	+80	+54	-41	+2,4	-63	-0,3
NED:VK	+10	+64	+43	-29	+2,2	-38	+0,6

VP-Nr.		T _A		t ₀₋₂₆		t ₂₆₋₂₇		t ₂₇₋₂₈		t ₂₈₋₂₉	
		(°C)		(sec)		(sec)		(sec)		(sec)	
05	48	32,0	32,6	404	224	50	14	66	18	84	18
09	63	32,6	31,8	247	212	30	19	40	34	42	25
14	29	33,5	32,0	233	123	26	34	36	32	52	50
16	23	33,8	32,3	274	223	34	20	52	36	68	40
34	41	33,8	32,7	129	400	14	70	20	62	22	68
32	52	33,5	31,6	315	309	28	46	32	58	46	86
20	51	33,8	33,1	201	109	36	10	40	12	48	12
06	38	32,9	33,3	235	255	44	20	44	40	40	38
26	60	33,4	32,0	355	246	50	19	50	37	70	36
17	45	33,5	33,1	159	195	20	12	24	8	32	14
21	37	31,9	33,5	216	140	24	12	28	20	32	28
25	46	33,0	33,0	143	238	14	26	18	29	22	35
11	67	33,7	31,7	182	264	22	22	28	36	32	41
12	53	32,5	33,4	322	198	46	12	54	15	60	18
10	43	35,0	32,8	151	186	26	14	28	14	36	16
19	64	33,4	32,0	181	212	4	11	8	14	12	17
24	47	33,0	31,9	309	152	20	13	40	15	48	17
33	58	33,2	32,2	319	198	50	10	56	14	70	16
35	66	32,3	31,8	218	229	6	19	48	30	40	35
22	49	33,3	32,4	244	237	22	14	18	16	29	18
31	42	33,6	32,2	233	290	20	35	20	50	28	55
13	54	34,3	33,6	175	208	17	18	13	22	21	28
07	55	33,6	31,9	268	198	33	18	39	26	51	29
27	39	33,0	34,4	333	132	40	9	70	15	70	22
30	69	32,9	32,3	177	194	18	14	20	31	26	29
15	50	34,7	32,5	220	195	24	12	34	19	37	25
$\bar{m}_a \rightarrow$		33,32	32,54	240	214	28	20	36	27	43	31
$s \rightarrow$		0,73	0,71	72	61	13	13	16	14	18	18
α_2 (%)		0,1 1									
$s \rightarrow$		0,66	0,65	52	53	9	10	11	13	13	19
$\bar{m}_a \rightarrow$		33,19	32,46	237	215	23	21	30	29	43	35
01	48	33,2	32,6	281	224	25	14	36	18	50	18
40	63	31,1	31,8	329	212	40	19	40	34	70	25
56	52	33,4	31,6	302	309	26	46	39	58	53	86
02	74	33,2	31,7	181	213	17	11	21	14	31	18
62	71	33,3	32,2	235	244	22	24	29	32	39	45
18	51	33,2	33,1	174	109	7	10	7	12	12	12
28	38	32,6	33,3	267	255	23	20	37	40	60	38
70	46	33,9	33,0	151	238	15	26	16	29	30	35
61	47	33,4	31,9	257	152	24	13	31	15	45	17
36	42	32,9	32,2	232	290	27	35	25	50	37	55
57	55	33,2	31,9	289	198	27	18	35	26	49	29
65	73	33,3	32,4	200	243	19	24	24	31	34	46
03	04	33,0	33,7	192	181	20	22	34	26	39	38
68	72	33,9	32,3	189	232	18	23	22	30	38	43
59	69	33,5	32,3	277	194	23	12	36	31	49	29
08	44	33,9	33,4	239	137	42	13	50	15	45	19

t ₂₉₋₃₀		t ₃₀₋₃₁		t ₃₁₋₃₂		t ₃₂₋₃₃		t ₃₃₋₃₄		t ₃₄₋₃₅	
(sec)		(sec)		(sec)		(sec)		(sec)		(sec)	
130	20	240	33	270	33	-	54	-	110	-	148
58	45	90	65	130	85	-	113	-	-	-	-
50	74	64	110	96	310	130	-	-	-	-	-
84	68	122	86	170	116	270	-	-	-	-	-
26	83	42	107	62	127	114	-	200	-	-	-
56	136	78	242	110	248	190	-	-	-	-	-
60	16	86	20	124	30	174	50	-	88	-	-
52	40	84	60	102	66	118	116	-	218	-	-
90	50	96	71	114	109	200	169	240	-	-	-
38	16	53	19	93	27	140	32	-	58	-	144
36	37	50	43	90	60	120	70	-	156	-	-
46	54	48	76	52	90	66	170	-	-	-	-
38	51	56	77	84	119	120	-	220	-	-	-
86	18	144	17	270	31	-	30	-	56	-	103
40	20	60	22	90	30	110	48	150	83	240	178
16	76	26	62	32	74	40	149	57	-	247	-
62	17	120	22	240	32	-	39	-	73	-	-
84	40	116	28	174	244	350	250	-	-	-	-
56	44	80	67	230	91	-	161	-	-	-	-
27	22	34	25	54	42	72	63	108	106	-	169
42	74	60	90	80	116	160	204	-	-	-	-
25	30	27	42	49	60	68	126	220	267	-	-
67	40	80	57	116	78	175	129	-	-	-	-
80	28	94	43	126	50	360	68	-	83	-	-
36	33	48	62	62	93	70	126	140	-	-	-
41	30	48	47	76	63	104	130	226	-	-	-
55	45	79	61	119	93	-	-	-	-	-	-
26	28	45	46	68	72	-	-	-	-	-	-
15	29	27	51	47	52	-	-	-	-	-	-
51	43	83	66	112	88	-	-	-	-	-	-
63	20	109	33	162	33	145	54	-	110	-	148
62	45	73	65	105	85	-	113	-	-	-	-
69	136	117	242	174	248	156	-	-	-	-	-
45	32	67	53	109	64	89	-	-	-	-	-
56	41	93	68	132	111	126	159	290	-	-	-
14	16	15	20	19	30	26	50	33	88	57	-
56	40	84	60	162	66	-	116	-	218	-	-
36	54	74	76	72	90	71	170	194	-	-	-
59	17	101	22	154	32	123	39	-	73	-	-
43	74	56	90	76	116	136	204	-	-	-	-
68	40	112	57	165	78	146	129	-	-	-	-
47	40	106	68	94	111	101	158	245	-	-	-
47	37	68	47	72	90	150	143	210	200	-	-
41	38	97	66	90	105	96	138	229	-	-	-
65	33	106	62	154	93	150	126	345	-	-	-
39	21	57	32	50	52	105	70	182	188	390	-

VP-Nr.		t_{26-A}		t_{0-A}		T_{Max}		T_{Hyp}		t_{Hyp}	
		(sec)		(sec)		(°C)		(°C)		(sec)	
05	48	840	162	1244	386	32,4	35,4	0,4	2,8	140	172
09	63	550	352	797	564	32,9	33,6	0,3	1,8	110	210
14	29	560	610	793	733	33,8	32,5	0,3	0,5	80	120
16	23	1020	458	1298	681	33,8	32,7	0	0,4	0	142
34	41	467	780	596	1180	34,6	32,7	0,8	0	253	0
32	52	760	710	1075	1019	33,7	31,6	0,2	0	140	0
20	51	740	154	941	263	33,8	34,3	0	1,2	0	201
06	38	470	437	705	692	33,7	34,6	0,8	1,3	190	338
26	60	760	322	1115	568	34,3	33,7	0,9	1,7	280	335
17	45	760	131	919	326	33,5	35,2	0	2,1	0	319
21	37	250	340	466	480	33,2	34,1	1,3	0,6	230	185
25	46	266	480	409	718	33,6	33,6	0,6	0,6	124	240
11	67	490	290	672	554	34,1	32,7	0,4	1,0	170	385
12	53	920	162	1242	360	32,8	35,5	0,3	2,1	100	315
10	43	780	154	931	340	35,4	35,4	0,4	2,6	260	406
19	64	158	254	339	466	35,8	33,5	2,4	1,5	542	402
24	47	820	112	1129	264	33,2	34,6	0,2	2,7	140	308
33	58	1000	600	1319	798	33,2	33,7	0	1,5	0	355
35	66	530	264	748	493	32,6	33,7	0,3	1,9	210	375
22	49	284	160	528	397	34,9	35,4	1,6	3,0	396	440
31	42	680	467	913	757	33,7	33,8	0,1	1,6	180	590
13	54	388	457	563	665	34,6	34,0	0,3	0,4	158	136
07	55	730	238	998	436	33,7	33,8	0,1	1,9	130	340
27	39	840	353	1173	487	33,0	35,2	0	0,8	0	215
30	69	266	286	443	480	34,7	33,6	1,8	1,3	354	359
15	50	880	260	1100	455	34,7	33,3	0	0,8	0	180
$\bar{m}_a \rightarrow$		623	346	864	560	33,83	33,93	0,52	1,39	161	272
$s \rightarrow$		250	183	298	221	0,85	1,03	0,62	0,86	134	137
α_2 (%)		0,1		0,1				0,1		0,2	
		1		0,2				2		1	
$s \rightarrow$		212	159	242	196	0,86	0,83	0,68	0,71	122	133
$\bar{m}_a \rightarrow$		566	346	803	561	34,07	33,88	0,88	1,42	198	277
01	48	807	162	1088	386	33,6	35,4	0,4	2,8	125	172
40	63	294	352	623	564	32,8	33,6	1,7	1,8	246	210
56	52	868	710	1170	1019	33,6	31,6	0,2	0	156	0
02	74	519	170	700	383	33,4	32,9	0,1	1,2	130	150
62	71	675	342	910	586	34,1	33,9	0,8	1,7	148	385
18	51	110	154	284	263	36,1	34,3	2,9	1,2	427	201
28	38	487	437	754	692	32,9	34,6	0,3	1,3	153	338
70	46	434	480	585	718	34,9	33,6	1,0	0,6	145	240
61	47	738	112	995	264	33,9	34,6	0,5	2,7	122	308
36	42	388	467	620	757	33,4	33,8	0,5	1,6	192	590
57	55	831	238	1120	436	33,9	33,8	0,7	1,9	131	340
65	73	580	377	780	620	34,1	33,8	0,8	1,4	135	174
03	04	430	520	622	701	34,1	34,4	1,1	0,7	224	324
68	72	546	348	735	580	34,8	33,9	0,9	1,6	139	380
59	69	796	286	1073	482	34,3	33,6	0,8	1,3	132	359
08	44	546	381	785	518	35,2	34,3	1,3	0,9	555	259



← Abb. 26 Thermometrie: Temperatur-Zeit-Verlauf und hyperthermischer Bereich bis zur maximalen Temperaturerhöhung bei den Kollektiven

—— MED (eingestellte Diabetiker)
----- NED (nicht eingestellte Diabetiker)
..... VK (Vergleichskollektive)
(vgl. Abb. 24)

4.2 Auswertung der Einzelergebnisse

4.2.1 Vergleich der nicht eingestellten Diabetiker (NED) mit ihrem zugehörigen Vergleichskollektiv NED-VK

Bei den Hautoberflächenlipiden war das Cholesterin um 81 % signifikant ($\alpha_1=0,1\%$) erhöht, die Triglyzeride um 17 % signifikant ($\alpha_1=2\%$) vermindert, sowie die Wachsester um 17 % ($\alpha_1=1\%$) vermindert. Das Verhältnis FFA/TG war um 39 % signifikant ($\alpha_1=5\%$) zugunsten der freien Fettsäuren verschoben.

Bei der Untersuchung des sogenannten Wasserlöslichen waren die mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode erfaßten reduzierenden Substanzen um 63 % signifikant ($\alpha_1=0,1\%$) vermindert und die mit der Ninhydrin-Methode erfaßten Aminosäuren um 81 % signifikant ($\alpha_1=0,1\%$) vermehrt.

Die Hauttemperatur T_A war um $0,73^\circ\text{C}$, das heißt um 2,2 % signifikant ($\alpha_1=1\%$) erhöht, die Zeit bis zur Wiedereinstellung der Ausgangstemperatur um 43 % signifikant ($\alpha_1=0,2\%$) verlängert. Der reaktive Temperaturanstieg war sowohl zeitlich (um 29 %) als auch temperaturseitig (um 38 %) verringert.

4.2.2 Vergleich der eingestellten Diabetiker (MED) mit ihrem zugehörigen Vergleichskollektiv (MED-VK)

Bei den Hautoberflächenlipiden war das Cholesterin um 40 % signifikant ($\alpha_1=2\%$) erhöht, die Squalene um 26 % signifikant ($\alpha_1=5\%$) vermindert und die Paraffine um 23 % signifikant ($\alpha_1=5\%$) erhöht.

Bei der Untersuchung des sogenannten Wasserlöslichen waren die mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode erfaßten reduzierenden Substanzen um 38% signifikant ($\alpha_1 = 0,1\%$) vermindert und die mit der Ferricyanid-Methode erfaßten reduzierenden Substanzen um 27 % signifikant ($\alpha_1 = 2\%$) vermehrt.

Die Hauttemperatur T_A war um $0,78\text{ }^\circ\text{C}$, das heißt um $2,4\%$ signifikant ($\alpha_1 = 0,1\%$) erhöht, die Zeit bis zur Wiedereinstellung der Ausgangstemperatur um 54% signifikant ($\alpha_1 = 0,1\%$) verlängert. Der reaktive Temperaturanstieg war sowohl zeitlich (um 41%) als auch temperaturmäßig (um 63%) verringert.

4.2.3 Vergleich der beiden Diabetikerkollektive (MED, NED) untereinander

Durch die langjährige Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels bei den Diabetikern haben sich folgende Werte signifikant verändert:

zum Normalwert hin verbessert

freies Cholesterin	von + 81 %	auf + 40 %	($\alpha_1 = 2\%$)
Triglyzeride	von - 17 %	auf + 5 %	($\alpha_1 = 5\%$)
Wachsester	von - 17 %	auf - 3 %	($\alpha_1 = 5\%$)
FFA/TG	von + 39 %	auf - 19 %	($\alpha_1 = 1\%$)
red. Subst. n. d. Phenol-Schwefelsäure-Methode	von - 63 %	auf - 38 %	($\alpha_1 = 0,1\%$)
Aminosäuren n.d. Ninhydrin-Methode	von + 81 %	auf + 14 %	($\alpha_1 = 0,1\%$)
Milchsäure	von + 50 %	auf + 38 %	(ohne S.)

vom Normalwert weg verschlechtert

freie Fettsäuren	von + 11 %	auf - 13 %	($\alpha_1 = 2\%$)
Squalene	von - 6 %	auf - 26 %	($\alpha_1 = 2\%$)

Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Diabetikerkollektiven bei den thermometrischen Untersuchungen waren nicht nachzuweisen.

5. Diskussion

Wie in der Einleitung bereits ausgeführt, wird in der Literatur übereinstimmend berichtet, daß Diabetiker eine hohe Praedisposition für Infektionen der Haut, insbesondere für Mykosen und staphylogene Pyodermien aufweisen. Nicht eindeutig geklärt ist, welche Veränderungen an der Hautoberfläche diese Praedisposition verursacht.

Bei der Diskussion der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist es notwendig, sich bewußt zu sein, daß alle Versuchspersonen zum Zeitpunkt der Untersuchung frei von Hauterkrankungen waren. Die Ergebnisse können und sollen also nicht auf Folgen und Auswirkungen der pyogenen oder mycogenen Dermatosen hin analysiert werden, sondern nur auf Ursachen oder Voraussetzungen für die Praedisposition. Es wurde auch darauf verzichtet, statistisch nicht abgesicherte Unterschiede zwischen den Kollektiven oder nicht signifikante Korrelationen spekulativ abzuschätzen, es sei denn, die Tendenzen waren durch andere, statistisch abgesicherte Ergebnisse von erhöhter Wahrscheinlichkeit.

Als erster befaßte sich URBACH (170, 171) um 1930 mit dem Problem des Hautzuckers unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen. Er hat als Normalwerte beim gesunden Menschen für die freien Zucker ca. 60 mg% und für die gebundenen Zucker ca. 900 mg% ermittelt. Nach URBACH und REJTÖ (170) weisen nur die freien Zucker eine Beziehung zu den verschiedenen Dermatosen auf. Diese Aussage muß inzwischen als nicht definitiv gesichert dahingestellt werden. Die Untersuchungen URBACHs führten schließlich auch zu der Feststellung, daß die freien Hautzucker zum Blutzucker in einer gleichbleibenden Relation von etwa 60 : 100 stehen sollen; beim Diabetiker bliebe im allgemeinen dieses Verhältnis auch bestehen, wenn der Blutzucker ansteigt und beträchtlich die Normwerte überschreitet.

1933 untersuchten URBACH und Mitarbeiter den Hautzucker

in einer Reihe jener Fälle, in denen bestimmte, therapieresistente Hauterkrankungen (Furunkulose, Abszesse, Ekzeme, Pruritus u.a.) nach kohlehydratarmer Diät überraschend schnell abheilten und fanden einen beträchtlich erhöhten Hautzucker, obgleich die Werte des Nüchternblutzuckers im Normbereich lagen und Zucker im Harn nicht nachweisbar war.

URBACH prägte für diesen Befund zunächst den Begriff 'isolierte kutane Glykohistechie' (171). Später wurde die Bezeichnung 'Hautdiabetes' eingeführt und von URBACH definiert als „hyperglycodermia without hyperglycemia“ (173). ZIERZ (183) verstand unter diesem Begriff später „jene bei üblicher Behandlung meist therapieresistenten, rezidivierenden oder chronischen Dermatosen (Furunkulose, Ekzem, Pruritus u.a.), die sich durch hohen Nüchtern-Hautzucker bei normalem Verhalten des Blutzuckers, durch eine günstige therapeutische Beeinflussung nach Kohlehydratentzug mit oder ohne gleichzeitige Insulindarreichung sowie durch Senkung des hohen Hautzuckerwertes bei antidiabetischer Behandlung auszeichnen“. Von URBACH und Mitarbeitern wurde auch die Ansicht begründet, daß es einen vom Stoffwechsel des übrigen Organismus unabhängigen intermediären Glukose-Stoffwechsel der Haut gäbe, daß also die Haut nicht nur als Speicherorgan für Glukose aufzufassen ist. Die Ergebnisse einiger anderer Untersuchungen könnten dafür sprechen, doch konnte diese Ansicht bisher nicht schlüssig bewiesen werden (18, 171, 172, 173, 174, 183).

Es gibt durchaus Anhaltspunkte dafür, daß tatsächlich Schwankungen im Verhältnis zwischen Blut- und Hautzucker beim Diabetiker auftreten. Sie werden heute allerdings eher mit den ziemlich komplizierten Durchblutungs- und Diffusionsverhältnissen der Haut und ihren strukturellen Elementen erklärt (43, 114, 147). Es wird aber auch diskutiert, ob die beobachteten Änderungen im Verhältnis zwischen Blut- und Hautzucker auf eine - wenn auch beschränkte - Glukosespeicherfähigkeit der Haut zurückzuführen ist (109, 133, 161), oder ob der Hautzucker durch den veränderten Hydrationszustand des Stratum corneum beim Diabetiker nur metho-

disch unterschiedlich erfaßt wird. Schließlich muß noch erwähnt werden, daß auch eine Glukosesynthese in der Haut selbst in Erwägung gezogen wird (18).

Eine Erhöhung des Hautzuckers beim Diabetiker wird also grundsätzlich nicht mehr in Zweifel gezogen, eine Erhöhung des Zuckers im Schweiß und im Speichel ist allerdings noch umstritten. Die Erhöhung des Hautzuckers soll auch durch eine gute Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels nicht voll normalisierbar sein und selbst schon beim latenten Diabetiker vorkommen (125, 129, 172, 173, 174).

Daß der Zuckergehalt für die Erreger von mykogenen und staphylogenen Dermatosen eine wichtige Rolle spielt, haben HERMANS, HOGERZJL und SEITZ (39, 70) bereits vor Jahrzehnten bei ihren Experimenten in vitro nachgewiesen, als sie für die Erreger optimale Wachstumsbedingungen auf Nährböden feststellten, die einen Glukosegehalt von 150-200 mg% enthielten (177, 180). Es liegt also durchaus nahe, die gefundene Erhöhung des Hautzuckers in einen kausalen Zusammenhang mit der Praedisposition des Diabetikers für Mykosen und Pyodermien zu bringen.

Während aber bei allen erwähnten Untersuchungen Hautexcisate bzw. Hautbiopsien der lebenden Epidermis analysiert wurden, bei denen nicht ausgeschlossen werden konnte, daß Bestandteile des Blut- und Lymphgefäßsystems miterfaßt wurden, haben CARRIÉ und KOENIG (25, 26) die reduzierenden Substanzen der Hautoberfläche, also des Stratum corneum mit der Methode nach HAGEDORN und JENSEN untersucht. Auch sie fanden eine Vermehrung der reduzierenden Substanzen auf der Haut beim Diabetiker, deuteten diesen Befund aber als eine Vermehrung der freien Zucker auf der Haut, eine Auffassung, die auch von ENGELHARDT (39) vertreten wurde. Untersuchungen mit anderen, teilweise glukosespezifischen Methoden haben jedoch nicht den Beweis für eine solche Vermehrung freier Zucker auf der Rückenautoberfläche des Diabetikers erbringen können (72, 122, 150, 181).

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde bewußt keine

Biopsie vorgenommen sondern eine Methode gewählt, die nur die an der Hautoberfläche befindlichen und aus dem Stratum corneum löslichen reduzierenden Substanzen erfaßt.

Bei der Analyse dieser Substanzen im sogenannten Wasserlöslichen ergaben sich einige signifikante Ergebnisse (Tab. 5 bis 7)

Bei den eingestellten Diabetikern wurde eine signifikante Vermehrung der mit der Ferricyanid-Methode erfaßbaren reduzierenden Substanzen gefunden, was mit den oben erwähnten Befunden von CARRIÉ und KOENIG (25, 26) übereinstimmt. Allerdings werden die Meßergebnisse nach dieser Methode, wie GLOOR und Mitarbeiter (56) festgestellt haben, wesentlich stärker durch die Aminosäuren als durch die freien Zucker bestimmt. Vielleicht liegt hier eine Erklärung für die widersprüchlichen Ergebnisse von MILLER und RIDOLFO (108) auf der einen und TILLING (167) auf der anderen Seite bei der Entwicklung eines Hautzucker-Testverfahrens.

Die bei den Diabetikern mit eingestelltem Kohlehydrat-Stoffwechsel gefundene signifikante Vermehrung der reduzierenden Substanzen ist dadurch zu erklären, daß die Ferricyanid-Methode sowohl Aminosäuren als auch gebundene Kohlehydrate erfaßt, daß aber beide Substanzgruppen die Methode gegensinnig beeinflussen. Für die Vermehrung der so erfaßten reduzierenden Substanzen müssen - im Gegensatz zu der Deutung von CARRIÉ und KOENIG die Aminosäuren verantwortlich gemacht werden.

Bei der Analyse des Wasserlöslichen mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode wurde eine signifikante Abnahme der damit erfaßten reduzierenden Substanzen gefunden, und zwar bei den nicht eingestellten Diabetikern um ca. $2/3$, bei den eingestellten Diabetikern um ca. $1/3$. Die Abnahme dieser reduzierenden Substanzen scheint also durch die Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels beträchtlich rückgängig gemacht werden zu können.

Aus quantitativen Gründen können Unterschiede der Menge

an Glukose, Kreatinin, Zitronensäure und anderer Zwischenprodukte des Zuckerabbaus nicht für diese Verminderung infrage kommen. Es kann sich also nur um eine vorwiegende Verminderung der gebundenen Kohlehydrate handeln (40, 41, 56, 76, 77, 78, 79, 118, 119, 154, 155, 156, 157, 165). Möglicherweise besteht auch ein Zusammenhang mit einer Mucopolysaccharid-Stoffwechsel-Störung der Haut (175).

Die signifikante Abnahme dieser reduzierenden Substanzen bei beiden Diabetikerkollektiven kann - im Gegensatz zu der von URBACH und REJTÖ (170) vertretenen Meinung - durchaus einer der relevanten ätiologischen Faktoren sein, die eine Praedisposition der Diabetiker verursachen, zumal GLOOR und Mitarbeiter bei Patienten mit Impetigo contagiosa (59) und solchen mit intertriginöser Candidiasis (60) analoge Analysenresultate fanden. Sie kann jedoch auch ein Teilsymptom des sogenannten 'skin diabetes' darstellen, der insgesamt schon ein praedisponierender Faktor sein könnte.

Besonders bemerkenswert ist die hochsignifikante Vermehrung der Aminosäuren, die mit der Ninhydrin-Methode erfaßt werden, bei den medikamentös nicht eingestellten Diabetikern um über 80 % gegenüber dem Vergleichskollektiv ohne diabetischen Befund. Diese Vermehrung betrifft, wie die quantitative Analyse der einzelnen Aminosäuren durch den Autoanalyzer bestätigt (Tab. 8), praktisch das gesamte Spektrum aller Aminosäuren, allerdings ist die Zunahme bei Serin, Threonin, Asparaginsäure und Arginin geringer. Diese Vermehrung der Aminosäuren ist durch die Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels signifikant rückgängig zu machen, so daß bei den medikamentös eingestellten Diabetikern die Menge der Aminosäuren auf der Hautoberfläche nur noch 14 % über der des Vergleichskollektivs liegt.

Zu diesen Ergebnissen paßt auch die - allerdings nicht signifikante - Verkürzung der Alkalineneutralisationszeit bei den Diabetikerkollektiven, da die Aminosäuren zumindest einen Teil der sauren Valenzen an der Hautoberfläche stel-

len (56, 61). Wahrscheinlich weisen diese Befunde auf einen für verschiedene Mykosen wichtigen praedisponierenden Faktor auf der Haut hin, zumal GLOOR und Mitarbeiter analoge Ergebnisse bei Untersuchungen von Patienten mit Pityriasis versicolor (61) und intertriginöser Candidiasis (60) fanden.

Auch bei den Untersuchungen der Hautoberflächenlipide wurden einige interessante Ergebnisse gefunden. Folgende Werte fallen auf:

1. eine signifikante Vermehrung des freien Cholesterins in beiden Diabetikerkollektiven,
2. eine beträchtliche, z.T. signifikante Verminderung der Wachs- und Cholesterinester und der Squalene,
3. eine bei den nicht eingestellten Diabetikern signifikante, bei den eingestellten Diabetikern deutliche Verschiebung des Quotienten FFA/TG zugunsten der freien Fettsäuren.

Zu 1. Die Erhöhung des Serumcholesterinspiegels beim Diabetiker ist allgemein bekannt. Das freie Cholesterin in den Hautoberflächenlipiden wird hauptsächlich von den epidermalen Lipiden gestellt, in den Talgdrüsenlipiden ist es nur in sehr geringem Maße enthalten. Man nimmt an, daß es vor allem in den Zellmembranen vorkommt und beim natürlichen Absterben der Epidermiszellen im Stratum corneum freigesetzt und dann auf der Hautoberfläche verestert wird (6, 49, 50, 64, 65, 107, 116, 124). In Übereinstimmung hiermit wäre die Annahme, daß Insulin den Zellumsatz reduziert und ein Insulinmangel dementsprechend zu einer Intensivierung des Zellumsatzes führt. Damit könnte wiederum der vermehrte Energieumsatz beim Diabetiker zusammenhängen, den GUNDERSEN (66) beschrieben hat.

Außerdem haben GLOOR und Mitarbeiter bei Untersuchungen von Patienten mit Impetigo contagiosa (59) ebenfalls einen Anstieg des freien Cholesterins gefunden. Hier scheint ein deutlicher Hinweis auf einen praedisponierenden Faktor in der Haut für Pyodermien vorzuliegen. Der Anstieg des freien Cholesterins könnte in Zusammenhang mit einer Zunahme des

Zellverfalls und damit mit der Vermehrung nekrotischen Verfallmaterials im Stratum corneum stehen, was wiederum mit der weiter oben angegebenen Intensivierung des Zellumsatzes bei Insulinmangel und damit einem schnelleren Zellverschleiß erklärt werden könnte. Dafür spricht auch, daß die Vermehrung des freien Cholesterins durch die Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels weitgehend normalisiert wird. Allerdings sind Korrelationen zwischen den Cholesterinwerten und den Werten für den Nüchternblutzucker bzw. den Angaben der Medikation (Insulin, orale M.) innerhalb der Diabetikerkollektive nicht einmal tendenziell nachzuweisen.

Zu 2. In diesem Zusammenhang muß auch die bei den nicht eingestellten Diabetikern signifikante Verminderung des Anteils der Wachs- und Cholesterinester gestellt werden. Die Wachsester sind in den epidermalen Lipiden nur wenig, in großem Maße jedoch in den Talgdrüsenlipiden enthalten (64, 65, 116, 124). Eine Vermehrung des Anteils des freien Cholesterins muß also zwangsläufig zur Verminderung des relativen Anteils der Wachs- und Cholesterinester führen. Die Verminderung der Wachs- und Cholesterinester wird durch die Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels beim Diabetiker halbwegs normalisiert.

Das gleiche gilt in ähnlicher Weise für die tendenziell erkennbare, jedoch nur bei den eingestellten Diabetikern signifikante Reduzierung des Squalenanteils.

Zu 3. Die freien Fettsäuren der Hautoberfläche entstehen zum größten Teil durch eine Aufspaltung der Triglyzeride mithilfe bakterieller Lipasen (52, 127, 141). Diese Lipolyse vollzieht sich auch beim gesunden Menschen infolge der normalen Besiedelung mit einer ubiquitären Bakterienflora.

Es muß also angenommen werden, daß entweder die Lebens- oder Überlebensbedingungen der Bakterien, die diese Lipasen im wesentlichen freisetzen, namentlich des Corynebakteriums acnes und der koagulasenegativen Staphylokokken

verbessert wurden oder die Reaktionsbedingungen der Lipasen. Für beide Annahmen könnte die weiter unter beschriebene, ebenfalls signifikante Temperaturerhöhung auf der Haut des Diabetikers eine Rolle spielen, obwohl diese Erhöhung der Hautoberflächentemperatur auch für beide Diabetikerkollektive nachweisbar ist.

Bei der Alkalineutralisationszeit-Bestimmung (Abb.25, Tab.10) waren signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven nicht nachzuweisen. Es gibt aber Tendenzen, die dafür sprechen, daß in beiden Diabetikerkollektiven die Neutralisationszeiten leicht verkürzt sind, was einerseits mit der beobachteten Vermehrung der Aminosäuren auf der Haut zu erklären ist, andererseits aber auch mit einer erhöhten Mobilisierbarkeit saurer Valenzen infolge eines vermehrten Wassergehaltes des Stratum corneum, z.B. durch Quellung als Folge eines vermehrten Schwitzens, in Zusammenhang gebracht werden kann. Neuere Untersuchungen von GLOOR und Mitarbeitern (58) haben außerdem erbracht, daß die Milchsäure bei der Bestimmung der Alkalineutralisations-Kapazität eine entscheidende Rolle zu spielen scheint: Aminosäuren können danach die Alkalineutralisationszeit nur in Zusammenhang mit Milchsäure vermindern, die Milchsäure kann jedoch die Alkalineutralisationszeit unabhängig von den Aminosäuren verkürzen.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die Bestimmung des Milchsäuregehalts auf der Hautoberfläche aus dem kollektivweise gepoolten Eluat bei den nicht eingestellten Diabetikern um 50 %, bei den Diabetikern mit langfristig eingestelltem Kohlehydrat-Stoffwechsel noch um 37,5 % über den Werten der jeweiligen Vergleichskollektive lag. Leider kann durch die Bestimmung aus dem gepoolten Extraktionsmaterial nichts über die Signifikanz dieser Unterschiede ausgesagt werden, doch würden diese Tendenzen gut zu der Verminderung der Alkalineutralisationszeit bei den beiden Diabetikerkollektiven passen.

Besonders interessante Ergebnisse erbrachte die thermometrische Untersuchung der Versuchspersonen.

Bei der diabetischen Mikroangiopathie handelt es sich um ein aufgrund zahlreicher pathologisch-anatomischer Untersuchungen eindeutig definiertes Krankheitsbild, das zwar nicht absolut spezifisch für den Diabetes mellitus zu sein scheint, das aber beim Diabetiker offensichtlich mit besonderer Häufigkeit auftritt. Es ist vor allem durch eine Verdickung der Kapillärwände mit einer Einlagerung PAS-positiver Substanzen und eine Proliferation der Intimazellen charakterisiert (9, 14, 24, 29, 36, 42, 44, 45, 48, 85, 104, 120, 130, 134, 135, 178). Zusätzlich sind Veränderungen der Fasern besonders in den Gefäßwänden nachweisbar (105, 131).

Umstritten ist in der Literatur, ob die Mikroangiopathie bereits vor Auftreten einer nachweisbaren Kohlehydratstoffwechselstörung zustande kommt und ob sie im Verlauf des Diabetes mellitus zunimmt. Allgemein akzeptiert wird hingegen, daß die diabetische Mikroangiopathie bereits in einem frühen Stadium der Erkrankung auftritt, daß keine Beziehungen zur diabetischen Makroangiopathie bestehen und daß die Mikrozirkulation nicht von Bedeutung für die angiologischen Spätkomplikationen des Diabetes mellitus ist (9, 14, 24, 29, 36, 42, 44, 45, 62, 68, 85, 104, 120, 130, 134, 135, 178). Besonders frühzeitig scheinen sich die erwähnten Faserveränderungen auszubilden (105, 131).

Neben diesen morphologischen Veränderungen am Gefäßsystem des Diabetikers können auch andere Faktoren die Mikrozirkulation beim Diabetiker beeinflussen. Das gilt insbesondere für die diabetische Neuropathie, bei der es bekanntlich zu Störungen des vegetativen Nervensystems kommen kann. Von der diabetischen Neuropathie wird angenommen, daß sie sich erst bei längerer Dauer des Diabetes mellitus ausbildet und daß sie außerdem von der Einstellung des Kohlehydratstoffwechsels durch Medikamente abhängig ist (15, 96, 101, 132).

Außerdem können Veränderungen des Gefäßinhaltes beim Diabetes mellitus die Mikrozirkulation beeinflussen, ins-

besondere kann der Hämatokritwert ansteigen, das Plasmavolumen absinken und daraus resultierend die Blutviskosität zunehmen. Diese Störungen werden mit einer erhöhten Gefäßwandpermeabilität in einen Zusammenhang gebracht, die wiederum mit den bereits erwähnten Veränderungen der Gefäßwände bei der diabetischen Mikroangiopathie in Beziehung stehen soll. Es scheinen davon nach den Literaturangaben vor allem Diabetiker mit längerer Krankheitsdauer betroffen zu sein (93, 152, 168).

Es entspricht folglich den Erwartungen, wenn beim Diabetiker die Mikrozirkulation gestört ist. Klinisch seit langem bekannt sind die Rubeosis faciei und die Rubeosis plantarum des Diabetikers. Diese Veränderungen sollen bereits beim Praediabetes nachweisbar sein und keineswegs erst im Rahmen der diabetischen Spätkomplikationen auftreten. Auch diese Symptome sind nicht für den Diabetes mellitus spezifisch, sie kommen jedoch beim Diabetiker stark gehäuft vor (15, 34, 48).

Zu diesen Befunden passen gut die Ergebnisse kapillarmikroskopischer Untersuchungen am Nagelwall und an den Lippen, die übereinstimmend eine Erweiterung der venösen Gefäßanteile ergeben haben (13, 82, 91, 104). Entsprechende Ergebnisse fanden sich bei Untersuchungen des Augenhintergrundes und der Conjunctiva (33, 34, 91). Auch diese Befunde sind nach übereinstimmender Auffassung bereits in den frühen Stadien der Erkrankung nachweisbar (13, 33, 34, 82, 91, 104).

Messungen der Durchblutung erbrachten in den Zehen und Fingern eine Verminderung der Durchblutung, die von Zehe zu Zehe bzw. von Finger zu Finger variieren kann (17, 102, 103). Im übrigen scheint die Ruhedurchblutung des Hautgewebes und des Fettgewebes erhöht zu sein. Ein kausaler Zusammenhang mit dem Vorhandensein arteriovenöser Anastomosen wird diskutiert. Bemerkenswert ist außerdem, daß diese Durchblutungsvermehrung sich bei guter Einstellung des

Kohlehydratstoffwechsels der Diabetiker zurückbildet (3, 4, 5, 23, 28, 33, 66).

Offen bleibt bei all diesen Untersuchungen, welchen Einfluß die beschriebenen Veränderungen der Durchblutungssituation auf die Hauttemperatur haben, zudem diese außerdem möglicherweise durch die bei schlecht eingestellten Diabetikern erhöhte Körpertemperatur (66) beeinflusst wird. Lediglich im Bereich der Hände und Füße wurde eine erniedrigte Hauttemperatur nachgewiesen, während an anderen Stellen keine entsprechenden Untersuchungen vorgenommen wurden (17). Andererseits erscheint die Hauttemperatur aus dermatologischer Sicht von besonderer Wichtigkeit, weil sie das Wachstum von Mikroorganismen auf der Haut möglicherweise beeinflusst und beim Diabetiker zahlreiche Infektionskrankheiten der Haut gehäuft auftreten, wie schon weiter oben beschrieben wurde.

Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, daß bei beiden Diabetikerkollektiven die Hauttemperatur signifikant erhöht war. Dabei fanden sich zwischen dem Kollektiv der medikamentös noch nicht eingestellten Diabetiker und dem der seit langem bekannten und bezüglich des Kohlehydratstoffwechsels medikamentös eingestellten Diabetiker keine nennenswerten Unterschiede. Diese Veränderungen scheinen sich also bereits in den frühesten Stadien des Diabetes mellitus zu manifestieren. Da sich bei den gleichzeitig durchgeführten biochemischen Untersuchungen an diesen Kollektiven eine sehr weitgehende Normalisierung der von der Norm abweichenden Werte durch die Einstellung fand, muß außerdem angenommen werden, daß die Einstellung des Kohlehydratstoffwechsels die Hauttemperatur nur wenig beeinflusst.

Diese Tatsachen lassen am ehesten an einen ursächlichen Zusammenhang mit der diabetischen Mikroangiopathie und dabei vor allem der Dilatation der venösen Gefäßanteile denken. Die Erhöhung der Körpertemperatur und die Vermehrung der Ruhedurchblutung können diese Befunde nicht

vollständig erklären, da sie im Gegensatz zu den vorliegenden Befunden sich unter einer guten Einstellung des Kohlehydratstoffwechsels, wie bereits erwähnt, weitestgehend zurückbilden.

Beim Diabetiker kann außerdem die Steuerung der Gefäße durch das autonome Nervensystem gestört sein. So wird eine Verminderung der spontanen Durchblutungsänderungen in den Extremitäten beschrieben (27). Diese Störung der Steuerung des Gefäßsystems durch das autonome Nervensystem konnte aber auch mit verschiedenen Modellversuchen deutlich gemacht werden (10, 16, 32, 101, 102, 103, 104, 137, 151, 152). Nach übereinstimmenden Angaben in der Literatur stehen diese Befunde in kausalem Zusammenhang mit der diabetischen Neuropathie und treten dementsprechend vorwiegend in den späteren Stadien des Diabetes mellitus auf.

Daneben wird in der Literatur darauf hingewiesen, daß Kälteexpositionen beim Diabetiker vielfach zu einer übersteigerten Vasokonstriktion führt (112). Auch vasokonstriktorische Pharmaka können eine überschießende Reaktion beim Diabetiker bewirken (10). Schließlich wird eine verminderte reaktive Hyperämie nach einer Hypoxie des Gewebes beschrieben (3, 4, 5, 27).

Die vorliegenden Ergebnisse der thermometrischen Untersuchungen zeigen ferner, daß die Zeitdauer bis zum Wiedererreichen der Ausgangstemperatur der Haut nach Abkühlung bei beiden Diabetikerkollektiven signifikant verlängert ist. Dieser Befund kann am ehesten mit der oben beschriebenen lokalen Fehlreaktion der Gefäße erklärt werden. Bemerkenswert ist an diesem Befund, daß zwischen dem Kollektiv der nicht eingestellten und dem der seit Jahren bekannten und eingestellten Diabetiker kein wesentlicher Unterschied besteht. Es scheint sich dabei also um Veränderungen zu handeln, die im Verlauf des Diabetes mellitus nicht zunehmen und weitgehend therapieunabhängig sind.

Für eine kausale Beziehung zu den Praedispositionen der Diabetiker für bestimmte Infektionskrankheiten der Haut scheint zwar die signifikant erhöhte Hauttemperatur eher von Bedeutung zu sein, als das reaktive Temperaturverhalten der Haut, doch kann die erhöhte Ruhedurchblutung bzw. die verminderte Fähigkeit zur reaktiven Hyperaemie die aktive Abwehrfunktion der Haut gegenüber Infektionserregern beeinträchtigen und somit ebenfalls als praedisponierender Faktor infrage kommen.

Zusammenfassung:

Bei getrennten Kollektiven von 26 Diabetikern, deren Kohlehydrat-Stoffwechsel längere Zeit hindurch medikamentös eingestellt war und 16 neu erkannten Diabetikern, die medikamentös noch nicht eingestellt waren, sowie bei jeweils gleich großen Vergleichskollektiven mit parallelisierter Alters- und Geschlechtsverteilung ohne diabetischen Befund wurden auf der Hautoberfläche biochemische und physiologische Untersuchungen vorgenommen.

Im biochemisch erfaßbaren Bereich wurden folgende signifikante Unterschiede der nicht eingestellten Diabetiker gegenüber dem Vergleichskollektiv gefunden:

1. eine Vergrößerung des prozentualen Anteils des freien Cholesterins an den Hautoberflächenlipiden, möglicherweise als Folge eines erhöhten Zellumsatzes in der Epidermis;
2. eine Vermehrung des relativen Anteils der freien Fettsäuren zu Ungunsten der Triglyzeride in den Hautoberflächenlipiden als Ausdruck einer verbesserten bakteriellen Lipolyse;
3. eine Verminderung der mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode nachweisbaren reduzierenden Substanzen im Wasserlöslichen;
4. eine Vermehrung der mit der Ninhydrin-Methode nachweisbaren Aminosäuren im sogenannten Wasserlöslichen.

Alle diese Veränderungen waren bei den neu erkannten Diabetikern signifikant ausgeprägter als bei den medikamentös eingestellten, lassen sich also teilweise durch die Einstellung des Kohlehydrat-Stoffwechsels wieder normalisieren.

Bei den thermometrischen Untersuchungen wurde die Hauttemperatur am Unterarm mit einem Bolometer gemessen. Außerdem wurden die Zeit bis zur Wiedereinstellung der Ausgangstemperatur und die maximale reaktive Hyperthermie nach Abkühlung der Haut mit Eis bestimmt. Bei beiden Diabetikerkollektiven war die Hauttemperatur signifikant erhöht und die Zeit

bis zur Wiedereinstellung der Ausgangstemperatur signifikant verlängert.

Wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Diabetikerkollektiven ließen sich nicht nachweisen.

Literaturverzeichnis:

1. Aepli, H.
Einführung in die praktische Biochemie
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt a.M., 1965
2. Agostini, A.
Ricerche sulla secrezione sebacea sei vecchi
Giorn. Gerontol. Suppl. 5, 129-168, 1955
3. Alexander, K., R. Teusen und H.J. Mitzkat
Measurement of the integrated capillary pressure in reactive hyperemic phase in diabetics and normal subjects
4th Europ. Conf. Microcirculation, Cambridge 1966
Bibl. anat. (Basel) 9, 516-519, 1967
4. Alexander, K., R. Teusen und H.J. Mitzkat
Vergleichende Messungen der Extremitätendurchblutung bei Diabetikern und Stoffwechselgesunden
Klin. Wschr. 46, 234-238, 1968
5. Alexander, K.
Die diabetischen Angiopathien
Münch. med. Wschr. 112, 690-696, 1970
6. Arutjunov, W.J., W.A. Odinkowa und N.A. Ushwiewa
Der Gehalt der menschlichen Haut an Cholesterin und anderen Lipoiden in verschiedenen Altersstufen
Hautarzt 21, 472-474, 1970
7. Ashwell, G.
Colorimetric analysis of sugars
in: Methods in Encymology by S.P. Colowick und N.O. Kaplan
Vol. III, 73-105
Academic Press New York, 1957
8. Ashwell, G.
New colorimetric methods of sugar analysis
in: Methods in Encymology by S.P. Colowick und N.O. Kaplan
Vol. VIII, 85-95
Academic Press New York, 1957
9. Banson, B.B. und P.E. Lacy
Diabetic microangiopathy in human toes with emphasis of the ultrastructural change in dermal capillaries
Amer. J. Path. 45, 41-58, 1964

10. Bárány, F.
Abnormal vascular reactions in diabetes mellitus
Acta med. scand. Suppl. 304, 1955
11. Barker, S.B.
Preparation and colorimetric determination of lactic acid
in: Methods in Encymology by S.P. Colowick und N.O. Kaplan
Vol. III, 241-246
Academic Press New York, 1957
12. Barlow, A.J.E. und F.W. Chattaway
Observations on the carriage of Candida albicans in man
Brit. J. Derm. 81, 103-106, 1969
13. Bartos, V., V. Dejmal und J. Syllaba
Beitrag der Kapillaroskopie zur Frühdiagnose der diabetischen Mikroangiopathie
Dtsch. Gesundh.-Wes. 26, 2147-2149, 1971
14. Bergovici, E., L.M. Solomon und H. Beerman
Microangiopathy in diabetes mellitus and nondiabetic dermatoses
Amer. J. med. Sci. 248, 20-26, 1964
15. Bischoff, A.
Das klinische Bild der Neuropathia diabetica
Ärztl. Prax. 26, 2140-2143, 1974
16. Bishnu, K. und M.R. Berenyi
Circulatory reflex response in diabetic patients with and without peripheral neuropathy
J. Amer. Ger. Soc. 19, 159-166, 1971
17. Branemark, P.-I., S.-E. Fagerberg, L. Langer und J. Säre-Sönderbergh
Infrared thermography in diabetes mellitus
Diabetologia 3, 529-532, 1967
18. Braun-Falco, O.
Über die Fähigkeit der menschlichen Haut zur Polysaccharid-Synthese: ein Beitrag zur Histotopochemie der Phosphorylase
Arch. klin. exp. Derm. 202, 163-170, 1956
19. Brun, R., K. Enderlin und A. de Weck
Variations de la couche sébacée de l'avant-bras suivant l'age et le sexe
Acta derm.-venerol. (Stockholm) 35, 312-317, 1955

20. Burckhardt, W.

Funktionsprüfung der Haut
in: Dermatologie und Venerologie von H.A. Gottron und
W. Schönfeld, Vol. 1/1, 194-196
G. Thieme Verlag Stuttgart, 1961

21. Burckhardt, W.

Praktische und theoretische Bedeutung der Alkalineträ-
sations- und Alkali-resistenzproben
Arch. klin. exp. Derm. 219, 600-602, 1963

22. Burton, R.M.

The determination of glycerol and dihydroxyacetone
in: Methods in Enzymology by S.P. Colowick und N.O. Kaplan
Vol. III, 246-249
Academic Press New York, 1957

23. Butterfield, W.J.H. und H.E. Holting

Peripheral glucose metabolism in fasting control subjects
and diabetic patients
Clin. Sci. 18, 147-174, 1959

24. Calvagno, M., E.B. Molina-Leguizamón und E. Padorno

La biopsia del piel como medio util y practico para detec-
tar una prediabetes o confirmar una diabetes
Derm. ibero lat.-amer. 10, 125-144, 1968

25. Carrié, C.

Untersuchungen über die chemischen Substanzen auf der
Haut; 1. Mitteilung: Methode zur Bestimmung chemischer
Substanzen auf der Haut
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 173, 604-606, 1936

26. Carrié, C. und R. Koenig

Über den Zuckergehalt auf der Haut bei Normalen und
Diabetikern
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 173, 611-614, 1936

27. Christensen, N.J.

Spontaneous variations in resting blood flow, postischaemic
peak flow and vibratory perception in the feet of diabetics
Diabetologia 5, 171-178, 1969

28. Christensen, N.J.

A reversible vascular abnormality associated with
diabetic ketosis

Clin. Sci. 39, 539-548, 1970

29. Cormane, R.H., A.J. Houtsmuller und A. Delver

Anticubital fossa skin capillaries of diabetics with
diabetic retinopathy and non diabetic subjects

Arch. belg. Derm. 26, 229-246, 1970

30. Cornbleet, Th.

Sweet reducing substances in yeast dermatoses

J. Amer. med. Ass. 104, 1976-1979, 1935

31. Cotterill, J.A., W.J. Cunliffe, B. Williamson und L.Bulusu

Age and sex variation in skin surface lipid composition
and sebum excretion rate

Brit. J. Derm. 87, 333-340, 1972

32. Czyzyk, A. und K. Ostrowski

Reactivity of the veins in diabetes

Diabetologia 8, 99-103, 1972

33. Ditzel, J.

Conjunctival vascular changes in relation to retino-
pathy and nephropathy of diabetes mellitus

Acta med. scand. 182, 213-218, 1967

34. Ditzel, J.

Functional microangiopathy in diabetes mellitus

Diabetes 17, 388-397, 1968

35. Dubois, M., K.A.Gilles, J.K.Hamilton, P.E.Rebers und F.Smit

The phenol-sulfuric-acid-reaction for carbohydrates

Anal. Chem. 28, 350-356, 1956

36. Durand, M. und A. Durand

Les altérations vasculaires dermo-hypodermiques des dia-
bétiques: Etude aux microscopes optique et électronique

Path. et Bio. 14, 1005-1019, 1966

37. Emanuel, S.
Quantitative determinations of the sebaceous glands
function with particular mention to the method employed
Acta derm. venerol. (Stockholm) 17, 444-456, 1936
38. Enderlin, K., R. Brun und A. Lindner
Nouvelles expériences sur la sécrétion sébacée:
Test à l'acide osmique
Dermatologica (Basel) 108, 235-256, 1954
39. Engelhardt, W.
Haben die beim Diabetiker gehäuft auftretenden Infek-
tionen durch Staphylokokken und Hefen ihre Ursache in
dem erhöhten Haut- und Schweißzucker?
Münch. med. Wschr. 80, 2037-2038, 1933
40. Freinkel, R.K.
Metabolism of glucose-C14 by human skin
J. invest. Derm. 34, 37-42, 1960
41. Freinkel, R.K.
Carbohydrate metabolism of the skin
Proc. 12th int. Congr. Derm. Washington
Excerpt. med. Found. Amsterdam-New York-London-Milano-
Tokyo 1, 383-385, 1962
42. Funk, H.U.
Veränderungen an kleinen Extremitätengefäßen von
Diabetikern
Schweiz. med. Wschr. 95, 487-492, 1965
43. Fusaro, R.M., J.A. Johnson und J. van Pilsum
The cutaneous glucose tolerance test: I. A rate constant
formula for glucose disappearance from the skin
J. invest. Derm. 42, 359-361, 1964
44. Garrachón, J., J. Munoz und M. Ortega
Estudio mediante biopsia de los capilares dermicos del
diabetico: I. Primera comunicaci6n
Rev. clin. exp. 94, 268-275, 1964

45. Garrachón, J., J. Molina und R. López-Fernández
Anormalidades capilares dermicas en la embarazada
diabetica
Rev. clin. esp. 104, 230-234, 1967
46. Geigy, J.R. Pharma-AG (Hrsg.)
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage, Basel 1968
47. Gent, C.M. van
Separation and microdetermination of lipids by thin-
layer-chromatography followed by densitometry
Z. anal. Chem. 236, 344-350, 1968
48. Gitelson, S. und N. Wertheimer-Kapilinski
Color of the face in diabetes mellitus: Observations
on a group of patients in Jerusalem
Diabetes 14, 201-208, 1965
49. Gloor, M., U. Schulz, G. Wieland und I. Wiegand
Untersuchungen über einen Zusammenhang zwischen Menge
und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide
1. Mitteilung
Fortschr. Med. 90, 325-327, 1972
50. Gloor, M., M. Kionke, R. Strack und H.C. Friederich
Untersuchungen über einen Zusammenhang zwischen Menge
und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide
2. Mitteilung
Fortschr. Med. 90, 1271-1274 und 1278, 1972
51. Gloor, M., R. Strack und I. Wiegand
Über den Einfluß der Hautoberflächenlipide auf Alkali-
resistenz und Alkalineutralisationsfähigkeit der Haut
Fette-Seifen-Anstrichmittel 74, 173-176, 1972
52. Gloor, M.
Les acides gras libres dans les lipides cutanés
superficiels
Bull. Soc. franç. Derm. Syph. 80, 562-565, 1973
53. Gloor, M., H. Oschmann und H.C. Friederich
Über den Einfluß endogener und exogener Faktoren auf
die Hautoberflächenlipidmenge
Z. Haut-Geschl. Kr. 48, 413-418, 1973

54. Gloor, M., P. Franz und H.C. Friederich
Untersuchungen über die Physiologie der Talgdrüsen und
über den Einfluß der Hautoberflächenlipide auf die Be-
netzbarkeit der Haut
Arch. Derm. Forsch. 248, 79-88, 1973
55. Gloor, M.
Über die Hautoberflächenlipide: Physiologische Funktion
- Einfluß verschiedener Dermatosen - Pharmakologische
Beeinflussbarkeit
Hautarzt, im Druck
56. Gloor, M., M. Kionke und H.C. Friederich
Biochemical and physiological parameters on the skin
surface of healthy test persons
Arch. Derm. Forsch., im Druck
57. Gloor, M., V. Marckardt und H.C. Friederich
Biochemical and physiological particularities on the
skin surface of diabetics
Arch. Derm. Forsch., im Druck
58. Gloor, M., H.G. Schneider und H.C. Friederich
Biochemische Untersuchungen zur Alkalineneutralisations-
zeit-Bestimmung
Derm. Mschr., im Druck
59. Gloor, M., H.J. Weigel und H.C. Friederich
Predisposing factors on the surface of the skin in
persons with Impetigo contagiosa
Arch. Derm. Forsch., im Druck
60. Gloor, M., A. Geilhof und H.C. Friederich
publicandum
61. Gloor, M., D. Kämpel, G. Ronneberger und H.C. Friederich
publicandum
62. Goncalves, P.A., Morais D.S.C.A. und B. de Oliveira
A biopsia de lobulo de opelha no estudo da micro-
angiopathia diabetica
Derm. ibero lat.-amer. 12, 241-245, 1970

63. Graumann, U.

Über Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide bei Acne vulgaris und deren Beeinflußbarkeit durch Tetracycline

Inaugural-Dissertation Marburg/Lahn, 1972

64. Greene, R.S., D.T. Downing, P.-E. Pochi und J.S. Strauss

Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid

J. invest. Derm. 54, 240-247, 1970

65. Griesemer, R.D. und R.W. Thomase

Lipogenesis in human skin: III. Variation in human skin

J. invest. Derm. 41, 235-238, 1963

66. Gundersen, H.J.G.

Peripheral blood flow and metabolic control in juvenile diabetics

Diabetologia 10, 225-231, 1974

67. Häggendal, E., J. Kerstell, B. Steen und A. Svanberg

Blood flow in subcutaneous fat tissue in patients with diabetes mellitus

Acta med. scand. 183, 79-82, 1968

68. Handelsman, M.B., T.B. Morrione und B. Ghitman

Skin vascular alterations in diabetes mellitus

Arch. intern. Med. 110, 70-77, 1962

69. Hartwagner, A. und M. Ludvan

Mikrobielles Ekzem und Diabetes mellitus

Z. Haut-Geschl. Kr. 46, 634-637, 1971

70. Hermanns, Hoyerzjl und Seitz

8. Congrès international. de dermat. et de syphiligr. Kopenhagen 1930 bzw. Arch. klin. Chir. 112, 1919

zit. nach: Engelhardt, W., Münch. med. Wschr. 80. 2037-2038, 1933

71. Herrmann, F. und P.H. Prose
Studies on the ether soluble substances on the human skin
I. Quantity and replacement sum
J. invest. Derm. 16, 217-230, 1951
72. Herrmann, F. und W. Sehr
Über die Verteilung von Glucose und aufgetragenen Material auf der menschlichen Hautoberfläche
Hautarzt 22, 388-390, 1971
73. Honsig, Chr.
Vergleichende Untersuchungen über Lipidgehalt und Regenerationszeit an der Innenseite von Hand und Vorderarm unter Berücksichtigung des Spreiteffekts
Inaugural-Dissertation München, 1967
74. Itzel, P.
Katamnestische Untersuchungen über Hautkrankheiten bei Diabetes mellitus dargestellt am Krankengut der Dermatologischen Universitätsklinik Marburg in der Zeit von 1950-1970
Inaugural-Dissertation Marburg/Lahn, 1973
75. Iversen, K., A. Viedeback und J.E. Kirk
Casual skin lipid levels in individuals of various ages
J. Gerontol. 8, 312-317, 1953
76. Jacobi, O.
Die Inhaltsstoffe des normalen Stratum corneum und Callus menschlicher Haut
1. Wasser, Hauttalg, reduzierende Substanzen, Pentosen, Desoxyribose, Glucosamin
Arch. klin. exp. Derm. 230, 183-194, 1967
77. Jacobi, O.
Die Inhaltsstoffe des normalen Stratum corneum und Callus menschlicher Haut
2. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen auf freie und gebundene Zucker
Arch. klin. exp. Derm. 233, 383-406, 1969

78. Jacobi, O.

Die Inhaltsstoffe des normalen Stratum corneum und Callus menschlicher Haut

3. Milchsäure, Kreatin, Kreatinin, Harnstoff und Cholin

Arch. klin. exp. Derm. 240, 107-118, 1971

79. Jacobi, O.

Die Inhaltsstoffe des normalen Stratum corneum und Callus menschlicher Haut

4. Zitronensäure, Ascorbinsäure, Phosphor, Gesamtpurine, Harnsäure, Purine und Pyrimidine

Arch. Derm. Forsch. 247, 353-366, 1973

80. Jadassohn, W.

Hautanhangsgebilde

Arch. klin. exp. Derm. 219, 63-82, 1963

81. Josephs, H., M. Gloor und H.C. Friederich

Über den Einfluß der Lipidsammelmethode auf den Nachweis von Paraffinen in den Hautoberflächenlipiden

Derm. Mschr., im Druck

82. Jürgensen, E.

Mikrokapillarbeobachtungen und Puls der kleinsten Gefäße

Z. klin. Med. 86, 410-434, 1918

83. Jung, H.D.

Mathematisch-statistische Analysen über die Mykosenfrequenz in einer diabetischen Population

Arch. klin. exp. Derm. 206, 526-529, 1957

84. Kandhari, K.C., J.S. Pasricha, S.K. Duggal und R.K. Pandhi

Investigations into the causation of increased susceptibility of diabetics to cutaneous infections

Indian J. med. Res. 57, 1295-1302, 1969

85. Kase, S.

Clinical study on microangiopathy of the skin in diabetics and prediabetics suspected

J. Chiba Med. Soc. (Chiba, Japan) 44, 950-959, 1969

86. Kirk, E.
Quantitative determinations of the skin lipid secretion
in middle aged and old individuals
J. Gerontol. 3, 251-266, 1948
87. Kirk, J.E. und M. Chieffi
The 20 minute rate of sebaceous secretion in the forehead
J. invest. Derm. 27, 15-17, 1956
88. Kleine-Natrop, H.E.
Topographie der Teststelle, Alkalineneutralisationsprobe
und Hauttyp
Arch. klin. exp. Derm. 219, 631-632, 1963
89. Korolev, F.
On the functional regulation of sebaceous glands
Vestn. Derm. Venerol. (Moskau) 36, 19-25, 1962
90. Kvorning, S.A.
Investigations into the pharmacology of the skin fats
and of ointments
II. On the occurrence and replenishment of fat on the
skin in normal individuals
Acta pharmacol. (Kopenhagen) 5, 262-269, 1949
91. Landau, J. und E. Davis
The small blood-vessels of the conjunctiva and nailbed
in diabetes mellitus
Lancet 2, 731-734, 1960
92. Langer, H. und I. Becker
Hautkrankheiten und Diabetes mellitus: Beobachtungen
an 818 ambulanten und 216 stationären Diabetikern
Dtsch. Gesundh. Ws. 24, 1364-1368, 1969
93. Langer, L., S.-E. Bergentz, J. Bjure und S.-E. Fagerberg
The effect of exercise on haematocrit, plasma volume
and viscosity in diabetes mellitus
Diabetologia 7, 29-33, 1971
94. Lincke, H.
Beiträge zur Chemie des Hautoberflächenfettes
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 194, 436-449, 1952

95. Lotze, A.
Hautkrankheiten und Diabetes
Inaugural-Dissertation, Düsseldorf, 1964
96. Lundbaek, K.
Recent contributions to the study of diabetic angio-
pathy and neuropathy
Advances metab. dis. 6, 99-129, 1972
97. Majumdar, T.D.
Der Zuckergehalt der Haut bei Candida-Infektionen
Hautarzt 14, 370-372, 1963
98. Marchionini, A.
Untersuchungen über die Wasserstoffionen- Konzentra-
tionen der Haut
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 158, 290-333, 1929
99. Marchionini, A.
Hautkrankheiten und Stoffwechsel
Med. Welt 11, 1197-1202, 1937
100. Marckardt, V., M. Gloor und H.C. Friederich
Thermometrische Untersuchungen zur Mikrozirkulation
in der Haut bei Diabetes mellitus
Derm. Mschr. 161, 628-634, 1975
101. Martin, M.M.
Involvement of autonomic nerve-fibres in diabetic
neuropathy
Lancet 1, 560-565, 1953
102. Megibow, R.S., S.J. Megibow, H. Pollock, J.J. Bookman
und K. Osserman
The mechanism of accelerated peripheral vascular sclerosis
in diabetes mellitus
Amer. J. Med. 15, 322-329, 1953
103. Mendlowitz, M., E.B. Grossman und S. Alpert
Decreased hallual circulation, an early manifestation
of vascular disease in diabetes mellitus
Amer. J. Med. 15, 316-321, 1953

104. Merlen, J.F., M. Benoit, G. Arnott und J. Coget
Diagnosis of latent diabetes by angioscopy and biopsy
of the digital pulp
Acta diabetol. lat. (Milano) 9, 405-418, 1972
105. Midtgaard, K.
Investigation on connective tissue in diabetes mellitus:
an electron microscopic study of skin and small arteries
Diabetologia 5, 49, 1969
106. Mier, P.D.
The carbohydrate metabolism of skin
Brit. J. Derm. 81, Suppl.2, 14-17, 1961
107. Miklaszewska, M. und A. Nowak
Cholesterol content in lipid mantle of the skin and
its relation to cholesterol level in blood serum
Przegl. Derm. 52, 257-263, 1965
108. Miller, D.I. und A.S. Ridolfo
The skin-surface-glucose test: an aid in the diagnosis
of diabetes mellitus
Diabetes 9, 48-52, 1960
109. Monacelli, M. und A. Ribuffo
Hautzuckergehalt bei der Psoriasis
Hautarzt 3, 498-503, 1952
110. Montes, L.F., H. Dobson, B.G. Dodge und W.R. Knowles
Erytrasma and diabetes mellitus
Arch. Derm. 99, 674-680, 1969
111. Moore, S. und W.H. Stein
The modified ninhydrin reagent for the photometric
determination of amino acids and related compounds
J. biol. Chem. 211, 907-913, 1955
112. Moorhouse, J.A., S.A. Carter und J. Doupe
Vascular responses in diabetic peripheral neuropathy
Brit. med. J. 1, 883-888, 1966

113. Muller, S.
Dermatologic disorders associated with diabetes mellitus
Mayo Clin. Proc. 41, 689-703, 1966
114. Mullins, J.F. und D. Naylor
Glucose and the acne diathesis: a hypothesis and review
of pertinent literature
Texas Rep. Biol. Med. 20, 161-175, 1962
115. Nékám, L. und I. Rász
A bőr alkalineutralizációt befolyásoló tényezők
Bőrgyogy venerol. szemle 40, 241-247, 1964
116. Nicolaides, N. und St. Rothman
The site of sterol and squalene synthesis in the
human skin
J. invest. Derm. 24, 125-129, 1955
117. Ottenstein, B.
Ergebnisse der Blut- und Hautzuckeruntersuchungen
in der Dermatologie
Derm. Z. 68, 293-301, 1934
118. Padberg, G.
Über die Kohlehydrate im wässrigen Eluat der menschli-
chen Hautoberfläche
Arch. klin. exp. Derm. 229, 33-39, 1967
119. Padberg, G.
Die Bildung der neutralen Kohlehydrate der Hornschicht
Arch. klin. exp. Derm. 231, 415-423, 1968
120. Pardo, V., E. Perez-Stable und E.R. Risher
Electron microscopic study of dermal capillaries in
diabetes mellitus
Lab. Invest. 15, 1994-2005, 1966
121. Park, H.T. und M.J. Johnson
Colorimetric analysis of sugars: Ferricyanid method
J. biol. Chem. 181, 149-151, 1949

122. Parker, A.M.
Testing skin surface for glucose
Diabetes 11, 49-52, 1962
123. Pastras, T. und H. Beerman
Some aspects of dermatology in diabetes mellitus;
A review of some recent literature
Indian med. J. 58, 183-189, 1964
124. Peter, G. und K. Eichenseher
Relation in der Lipidzusammensetzung von Comedonen,
palmarer Hautoberfläche und Talgdrüsen
Arch. Derm. Forsch. 247, 329-336, 1973
125. Peterka, E.S. und R.M. Fusaro
Cutaneous carbohydrate studies -
4. The skin glucose content of fasting diabetics
with and without infection
J. invest. Derm. 46, 459-463, 1966
126. Pritchard, J.E., L.D. Edwards and J.E. Christien
A study of the surface lipids of skin
J. Amer. Pharm. Ass. Sc. Ed. 38, 546-549, 1949
127. Puhvel, S.M.
The possible relationship of corynebacterium acnes
(Propionibacterium acnes) in the pathogenesis of
acne vulgaris
J. Amer. Med. Wom. Ass. 24, 321-325, 1969
128. Ramasastry, P., D.T. Downing, P.E. Pochi und J.S. Strauss
Clinical composition of human skin surface lipids
J. invest. Derm. 54, 139-144, 1970
129. Randazzo, S.D.
Consideranzioni generali sui rapporti fra diabete e cute
Dermatologia (Napoli) 11, 42-47, 1960
130. Reed, R.W., und G.C. McMillan
Disease of small blood-vessels in diabetes mellitus
Amer. J. med. Sci. 252, 357-374, 1966

131. Rees, S., M. Balodimos, D. Pometta, J. Caufield,
T. Kuwabra, R. Gleason und A. Marble
Pathogenesis of characteristic microangiopathy in
human and experimental diabetes
4th Europ. Conf. Microcirculation, Cambridge 1966
Bibl. anat. (Basel) 9, 506-507, 1967
132. Reske-Nielsen, E. und K. Lundbaek
Pathological changes in the central and peripheral
nervous system of young longterm diabetics
II. The spinal cord and peripheral nerves
Diabetologia 4, 34-43, 1968
133. Ribuffo, A.
Metabolismo glicidico nella cute
Minerva Derm. 30, Suppl. al 12, 630 ff., 1956
ref.: Zbl. Haut 99, 117, 1958
134. Romani, J.-D.
Les lésions des capillaires de la peau chez les
diabétiques
Presse méd. 79, 1745-1748, 1971
135. Ruszczak, Z.
Die Rolle des Gefäßsystems in der Pathogenese von
Hautkomplikationen bei Zuckerkranken
Arch. klin. exp. Derm. 226, 308-317, 1966
136. Sachs, L.
Angewandte Statistik:
Planung, Auswertung, Methoden und Modelle
Springer Verlag Heidelberg-New York, 1973
137. Säve-Sönderbergh, J., L. Angervall und S.-E. Fagerberg
Microangiopathy in young diabetic men:
A light microscopic biopsy study of skin with clinical
application
Diabetologia 2, 331-339, 1966
138. Salfeld, K.
Zur Frage der Alkalinneutralisation und Alkaliresistenz
der Altershaut
Arch. klin. exp. Derm. 219, 632-634, 1963

139. Salfeld, K.
Zur Funktion der Altershaut
1. Mitteilung: Über das funktionelle Verhalten der Haut-
oberfläche der alternden Haut
Ästh. Med. 14, 313-320, 1965
140. Salfeld, K.
Zur Funktion der Altershaut
2. Mitteilung: Über das Verhalten des Stratum corneum
der alternden Haut
Ästh. Med. 14, 332-337, 1965
141. Savin, J.
The bacteriology of acne
Brit. J. Derm. 86, Suppl. 8, 3-8, 1972
142. Schäfer, H. und H. Kuhn-Bussius
Methodik zur quantitativen Bestimmung der menschlichen
Talgsekretion
Arch. klin. exp. Derm. 238, 429-435, 1970
143. Schirren, C.G. und Chr. Honsig
Über die Lipidregenerationszeit im Bereich talgdrüsen-
freier Haut
Hautarzt 17, 224-227, 1966
144. Schneider, W. und H. Schuleit
Der Fettmantel der Haut und seine Bedeutung für die
Benetzung
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 193, 434-459, 1951
145. Schneider, W.
Alkalineneutralisation und Hauttyp
Arch. klin. exp. Derm. 219, 620-626, 1964
146. Schneider, W.
Hautkonstitution und Kosmetik
Cosmetologica 19, 231-236, 1970
147. Schragger, A.H.
Ultramicro determination of epidermal glucose
J. invest. Derm. 39, 417-418, 1962

148. Schrumpf, E.

Die Behandlung des mikrobiellen Unterschenkelektzems
unter besonderer Berücksichtigung des Diabetes mellitus
Z. Haut-Geschl. Kr. 46, 637-639, 1971

149. Schubert, H., A. Ziegler und R. Apel

Die Alkaliresistenz der Haut bei Jugendlichen und
ihre Bewertung
Berufsdermatosen 22, 160-167, 1974

150. Schulze, W. und K. Kunz

Über den Anteil des als Osazon bestimmten Zuckers und
einiger anderer Substanzen am Reduktionsvermögen des
Schweißes
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 181, 486-494, 1940

151. Sigroth, K.

Reflex vasodilatation of the fingers in the study of
peripheral vascular disorders
Acta med. scand. Suppl. 325, 1957

152. Skovborg, F., A.V. Nielsen, J. Schlichtkrull und
J. Ditzel

Blood-viscosity in diabetic patients
Lancet 1, 129-131, 1966

153. Spier, H.W. und G. Pascher

Freie Aminosäuren an der Hautoberfläche: Quantitative
Untersuchungen zur Frage ihrer physiologischen Bedeutung
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 200, 59-66, 1954

154. Spier, H.W. und G. Pascher

Die wasserlöslichen Bestandteile der peripheren Horn-
schicht (Hautoberfläche)
II. Stickstofffreie Säuren und Basen, wasserlöslicher
Gesamtschwefel
Arch. klin. exp. Derm. 201, 181-192, 1955

155. Spier, H.W. und G. Pascher

Zur analytischen und funktionellen Physiologie der
Hautoberfläche
Hautarzt 7, 55-60, 1956

156. Spier, H.W. und G. Pascher
Physiologie der Hautoberfläche
Akt. Probl. Derm. 1, 1-46
Karger Verlag Basel-New York, 1959
157. Spier, H.W. und G. Pascher
Analytische und physiologische Untersuchungen über die
wasserlöslichen Inhaltsstoffe der peripheren Hornschicht
(Hautoberfläche)
Acta derm. venerol. (Stockholm) Proc. 11th int. Congr.
Derm. Stockholm 1957 1, 14-22, 1960
158. Spier, H.W. und H.U. Beiersdorff
Zur quantitativen Bedeutung der Scleroproteine und der
wasserlöslichen Inhaltsstoffe für Alkalineutralisations-
und -resistenzproben
Arch. klin. exp. Derm. 219, 613-619, 1964
159. Spies, J. R.
Colorimetric procedures for amino acids
in: Methods in Encymology v. S.P. Colowick und N.O. Kaplan
Vol. III, 467-477
160. Spruit, D.
Evaluation of skin function by the alkali application
technique
Curr. Probl. Derm. 3, 148-163
Karger Verlag Basel-München-Paris-New York, 1970
161. Stapinski, A.
The glucose diagrams of the blood and the level of
glucose in cantaridine blisters in furunculosis
Polska Derm. Venerol. 5, 30-36, 1958
ref.: Zbl. Haut 101, 262, 1958
162. Sweeley, C.C., W.W. Wells und R. Bentley
Gas chromatography of carbohydrates
in: Methods in Encymology, von S.P. Colowick und
N.O. Kaplan, Vol. III, 95-111
163. Szakall, A.
Über die Eigenschaften, Herkunft und physiologische
Funktion der die H-Ionenkonzentration bestimmenden
Wirkstoffe in der verhornenden Epidermis
Arch. klin. exp. Derm. 201, 331-360, 1955

164. Szakall, A.
Experimentelle Daten zur Klärung der Funktion der
Wasserbarriere in der Epidermis des lebenden Menschen
Berufsdermatosen 6, 171-192, 1958
165. Szakall, A.
Biologie der Hautoberfläche
Acta derm. venerol. (Stockholm) Proc. 11th int. Congr.
Derm. Stockholm 1957 2, 23-26, 1960
166. Thornton, G.F.
Infections and diabetes
Med. Clin. N.Amer. 55, 931-938, 1971
167. Tilling, W.
Zur diagnostischen Brauchbarkeit des Hautzuckertests
Med. Klin. 10, 387-388, 1961
168. Trap-Jensen, J. und N.A. Lassen
Increased capillary diffusion capacity for small
ions in skeletal muscle in long-term diabetics
Scand. J. clin. Lab. Invest. 21, 116-122, 1968
169. Tronnier, H. und I. Jessen
Untersuchungen über das Spreitvermögen der menschli-
chen Haut in Abhängigkeit von konditionellen und
konstitutionellen Faktoren
Zschr. Haut-Geschl.-Kr. 43, 143-152, 1968
170. Urbach, E. und K. Rejtö
Beiträge zu einer physiologischen und pathologischen
Chemie der Haut
XI. Mitteilung
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 166, 478-490, 1932
171. Urbach, E.
Isolierte kutane Glykohistechie als Ursache chroni-
scher Dermatosen
Med. Klin. 29, 359-360, 1933
172. Urbach, E., F. Depisch und G. Sicher
Zum Problem des isolierten hohen Hautzuckers bzw.
Hautdiabetes
Klin. Wschr. 16, 452-456, 1937

173. Urbach, E.
Skin diabetes: hyperglycodermia without hyperglycemia
J. Amer. Med. Ass. 129, 428-440, 1945
174. Urbach, E. und J.W. Lentz
Carbohydrate metabolism and skin
Arch. Derm. Syph. (Chicago) 52, 301-316, 1945
175. Walter, W.
Contribution to the pathogenesis of dermatological complications in diabetes: Histoencymatic examination of polysaccharides in diabetic skin
Cs. Derm. 30, 335-340, 1961
176. Weitgasser, H. und M. Klima
Neue Gesichtspunkte in der Frage eines eventuellen Zusammenhanges des Hautdiabetes und des potentiellen Diabetes (sog. Praediabetes)
Z. Haut-Geschl.-Kr. 41, 311-321, 1966
177. Weitgasser, H.
Beitrag zur Frage der Beziehungen des Diabetes mellitus zu bestimmten Dermatosen
Z. Haut-Geschl. Kr. 47, 661-688, 1972
178. Williamson, J.R., N.J. Vogler und Ch. Kilo
Microvascular disease in diabetes
Med. clin. N. Amer. 55, 847-860, 1971
179. Yawalkar, S.J. und J.W. Aurangabadkar
Dermatological manifestations in diabetes mellitus
Indian Pract. 22, 447-450, 1969
180. Zaun, H.
Zur Frage der Bedeutung von Zuckerablagerungen auf der Haut für die Besiedlung mit Pilzen
Arch. klin. exp. Derm. 218, 415-421, 1964
181. Zaun, H. und R. Nascher
Untersuchungen über die Häufigkeit physiologischer Zuckerablagerungen auf der gesunden Hautoberfläche
Arch. klin. exp. Derm. 223, 438-448, 1965

182. Zaun, H. und J.E. Mozayen

Hautoberflächenzucker als Milieufaktor für die mikrobielle Besiedelung der Haut

Hautarzt 24, 428-430, 1973

183. Zierz, P.

Hautveränderungen bei Störungen der endokrinen Pankreasfunktion

in: Dermatologie und Venerologie v. Gottron-Schönfeld, III/2, 1009-1021, G. Thieme Verlag Stuttgart, 1959

9. Anhang

Durch die Verwendung des Ansaugzylinders zur Extraktion bei einer Anzahl von Versuchspersonen ergab sich die Möglichkeit, einen zusätzlichen methodischen Meßwertfehler eingeführt zu haben und damit die Notwendigkeit, diesen möglichen, methodisch bedingten Fehler abzuschätzen.

Aus diesem Grund wurde bei den je 12 ersten Versuchspersonen der Kollektive MED und NED, sowie bei den 12 ersten Versuchspersonen aus den Vergleichskollektiven das sogenannte Wasserlösliche rechts und links der Wirbelsäule nicht nur getrennt extrahiert, und zwar links mit dem Normalzylinder nach GLOOR und Mitarbeitern (NZ) und rechts mit dem Ansaugzylinder (AZ), sondern die so gewonnenen Eluatproben wurden auch getrennt analysiert. Das ergab pro Versuchsperson in den verschiedenen Analysen jeweils Meßwertpaare der Extinktion ΔE (Tab. 16).

Zunächst wurde in jedem Kollektiv und bei jeder Analyse der arithmetische Mittelwert für die Einzelmeßwerte des Eluats aus dem Normalzylinder NZ und für die Einzelmeßwerte des Eluats mit dem Ansaugzylinder AZ gebildet. Die tatsächliche Abweichung in % der Mittelwerte AZ gegenüber den Mittelwerten NZ (= 100 %) sind in Tabelle 15 aufgeführt.

	PHE	FER	NIN	ϕ
MED	+ 0,2	- 0,3	+ 0,3	+ 0,07
NED	+ 0,3	+ 0,4	- 0,1	+ 0,20
VK	- 0,1	- 0,4	+ 0,4	- 0,03
ϕ	+ 0,13	- 0,10	+ 0,20	+ 0,08

Tab. 15 Tatsächliche Abweichung von AZ gegenüber NZ in % von NZ

Die tatsächliche Abweichung der AZ-Mittelwerte gegenüber den NZ-Mittelwerten beträgt pro Einzelkollektiv einer jeden Analyse maximal $\pm 0,4\%$. Bei der Bildung eines Mittelwertes aus den jeweiligen AZ- und NZ-Meßergebnissen beträgt der Fehler also maximal $\pm 0,2\%$ des so gebildeten Mittelwertes; und dieser Mittelwert wurde als Meßwert der betref-

Tab. 16 Extinktionswerte bei getrennter Auswertung der mit Normalzylinder (NZ) und mit Ansaugzylinder (AZ) gewonnenen Eluatmengen bei jeweils der gleichen Versuchsperson in ΔE

	VP	PHENOL			FERRICYANID			NINHYDRIN		
	Nr.	NZ	AZ	MW	NZ	AZ	MW	NZ	AZ	MW
M E D	05	0,086	0,086	0,086	0,259	0,255	0,257	0,475	0,485	0,480
	09	107	105	106	338	330	334	613	598	605
	14	171	179	175	354	360	357	298	302	300
	16	154	156	155	252	256	254	369	374	372
	06	096	098	097	291	287	289	341	339	340
	17	136	133	135	259	262	260	366	358	362
	11	138	134	136	286	288	287	399	394	397
	12	129	126	127	178	178	178	348	345	346
	10	093	090	092	267	259	263	395	402	399
	13	166	171	168	392	401	397	302	306	304
	07	152	158	155	357	350	354	453	465	459
	15	197	193	195	339	335	337	353	356	354
	$\bar{m}_a$	0,135	0,136	0,136	0,298	0,297	0,297	0,393	0,394	0,393
N E D	01	0,065	0,065	0,065	0,296	0,300	0,298	0,624	0,615	0,619
	40	069	072	070	316	311	314	977	962	970
	56	113	110	112	286	298	292	370	382	376
	02	125	129	127	322	324	323	747	738	742
	18	081	083	082	145	145	145	716	704	710
	28	111	108	109	305	307	306	846	858	852
	61	060	061	061	255	248	252	796	799	797
	36	094	096	095	413	407	410	908	891	900
	57	052	052	052	207	216	211	740	750	745
	03	047	047	047	222	226	224	552	562	557
	59	059	058	058	267	262	264	865	870	868
	08	100	098	099	173	175	174	307	307	307
	$\bar{m}_a$	0,081	0,082	0,081	0,267	0,268	0,268	0,704	0,703	0,704
V K	29	0,183	0,181	0,182	0,271	0,268	0,269	0,507	0,520	0,514
	23	239	235	237	309	319	314	528	517	522
	41	190	187	189	268	271	270	423	431	427
	38	282	280	281	244	242	243	492	485	488
	45	310	301	305	180	180	180	324	320	322
	37	363	371	367	134	131	132	262	267	265
	43	197	200	198	169	174	172	360	370	365
	47	124	124	124	155	157	156	276	278	277
	42	235	239	237	335	324	330	197	200	198
	39	136	134	135	139	139	139	037	037	037
	04	352	342	347	288	282	285	411	399	405
	44	379	390	385	223	218	220	392	400	396
	$\bar{m}_a$	0,249	0,249	0,249	0,226	0,225	0,226	0,351	0,352	0,351

fenden Versuchspersonen in der vorliegenden Arbeit auch benutzt und ausgewertet.

Bei den übrigen Versuchspersonen wurde nur der Ansaugzylinder benutzt, die rechts und links der Wirbelsäule getrennt gewonnenen Eluate wurden zusammengeschüttet und dann analysiert. Hier lagen keine Meßwertpaare vor. Es mußte also aus den Meßwertdifferenzen der getrennt analysierten Vertreter der jeweiligen Kollektive ein Konfidenzintervall bestimmt werden, in dem mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit der wahre fehlerbehaftete Mittelwert liegt. Damit aus dem Vertrauensbereich des doppelt analysierten Kollektivs auf das Gesamtkollektiv geschlossen werden kann, mußte die Angabe der Vertrauensgrenzen in % des jeweils kleineren Mittelwerts (AZ oder NZ) erfolgen, womit zugleich sichergestellt war, daß der maximale Fehler im Vertrauensbereich blieb. Bei Abwägung des Konfidenzintervalls bezüglich der Wahrscheinlichkeit für einen Fehler 1. oder 2. Ordnung wurde für den zweiseitigen 95 % - Vertrauensbereich entschieden.

Nach SACHS (136) Seite 310 ist der Vertrauensbereich für die wahre mittlere Differenz gepaarter Beobachtungen:

$$VB = \bar{d} \pm t_{FG; \alpha} \cdot s_{\bar{d}}$$

mit

$$\bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad (\text{Mittelwert der } n \text{ Paardifferenzen})$$

$$t_{FG; \alpha_2} = 2,2010 \quad (\text{für } 95\% \text{-VB, d.h. } \alpha_2 = 0,05 \text{ und Freiheitsgrad } FG = n - 1)$$

$$\text{und} \quad s_{\bar{d}} = \frac{s_d}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum d_i^2 - (\sum d_i)^2 / n}{n(n-1)}}$$

Die so gefundenen oberen und unteren Vertrauensgrenzen wurden in % des kleineren der beiden Kollektivmittelwerte jeder Analyse (AZ oder NZ) angegeben und sind aus der nachfolgenden Tabelle 17 zu ersehen. Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß der maximale Fehler für den 95 % -Vertrauensbereich zwischen + 2,2 % und - 1,9 % des

Tab. 17 95 % - Vertrauensgrenzen des Fehlers in Prozent des Kollektivmittelwertes bei jedem Kollektiv und jeder Analyse

	+ ... > m _a < - ... (%)						Ø	
	PHENOL		FERRICYANID		NINHYDRIN		↓ KOLLEKTIV ↓	
MED	+2,2	-1,7	+1,0	-1,6	+1,6	-1,0	+1,6	-1,5
NED	+2,1	-1,4	+1,8	-1,1	+0,9	-1,2	+1,6	-1,3
VK	+1,4	-1,8	+1,2	-1,9	+1,9	-1,2	+1,5	-1,7
Ø ANA- LYSE	+1,9	-1,6	+1,3	-1,5	+1,5	-1,1	+1,6	-1,5

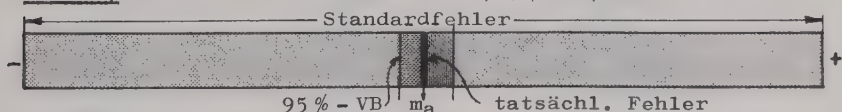
kleineren Kollektivmittelwertes liegt und daß nach überschlägiger Abschätzung bei keinem Kollektiv und keiner Analyse irgendeine Tendenz nach einer bestimmten Richtung feststellbar ist.

Der Standardfehler des arithmetischen Mittelwerts einer Meßreihe ist nach SACHS (136) Seite 93:

$$\pm s_{\bar{x}} \quad \text{bzw.} \quad \pm \frac{100 \cdot s_{\bar{x}}}{\bar{x}} \quad (\%)$$

Danach ist offensichtlich, daß der größte möglicherweise eingeführte Fehler durch die Verwendung des Ansaugzylinders in der Größenordnung von 3 % des Standardfehlers der jeweiligen vollständigen Kollektive liegt.

Abb. 27 Verhältnis Standardfehler/95 %-VB/tatsächl. Fehler



Die aus jeweils 12 Versuchspersonen gewonnene Schätzung des möglicherweise eingeführten Fehlers dürfte für Kollektive aus 16 bzw. 26 Versuchspersonen - vorausgesetzt, es liegt keine systematische Verzerrung der Reststichproben vor - eher ein engeres Konfidenzintervall liefern.

Bei Verwendung des Ansaugzylinders wird also - wenn überhaupt - ein vernachlässigbar kleiner methodischer Fehler eingeführt. -

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. H.C. Friederich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und des Arbeitsplatzes in der Dermatologischen Universitätsklinik Marburg danken.

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Dr. Max Gloor verpflichtet, der mich bei der Konzeption der Arbeit beraten und es verstanden hat, mir den Überblick über das Gesamtgebiet zu vermitteln und vor allem zu erhalten.

Für die technische Beratung, für die Unterstützung im Labor und für das faire Arbeitsklima dort bedanke ich mich bei Frau Baumann, Frä. Hoeck, Frä. Kämpel, Frau Roenneberger und nicht zuletzt bei Herrn Kionke und Frau Schneider.

Für die Erlaubnis, einige Diabetes-Patienten seines Hauses untersuchen zu dürfen, muß ich mich bei dem Direktor der Medizinischen Poliklinik der Universität Marburg, Herrn Prof. Dr. Klaus und dem Kollegen Dr. Schubotz bedanken.

Schließlich möchte ich mich bei allen Versuchspersonen bedanken, die sich trotz ihres teils fortgeschrittenen Alters für die beträchtlichen Aufwand an Zeit und Geduld erfordernden Untersuchungen zur Verfügung stellten.

Lebenslauf

Am 29. Januar 1939 wurde ich in Gera geboren. Mein Vater, Werner Marckardt, war Auslandskorrespondent, meine Mutter, Grete Marckardt, geb. Ehrhardt, war kaufmännische Angestellte. 1945 wurde ich in Bad Sulza / Thüringen eingeschult, ab 1952 besuchte ich die Friedrich-Schiller-Oberschule in Weimar. 1954 bestand ich dort die Prüfung der Mittleren Reife, 1956 die Reifeprüfung. 1957 absolvierte ich nach einjährigem Besuch des Freiherr vom Stein-Gymnasiums in Berlin-Spandau die Anerkennungsprüfung des DDR-Abiturs für die Bundesrepublik.

Von 1957 bis 1967 studierte ich an der Technischen Universität Berlin-Charlottenburg mit Unterbrechungen durch Auslandsaufenthalte Maschinenbau/Flugzeugbau.

1967 begann ich an der Philipps-Universität Marburg das Studium der Zahnmedizin, bestand 1968 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1970 die zahnärztliche Vorprüfung und 1973 das Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Professoren und Dozenten:

Amon	Janke	Rosemann
Aurich	Karlson	Rupec
Castenholz	Keil	Schiff
Dimroth	Köcke	Schmidt
Engelhardt	Korb	Schmitz-Moormann
Friederich	Mahr	Schnell
Geus	Maus	Seidel
Gloor	Niemeyer	Siefert
Haan	Nöth	Strohmeyer
Hennis	Pantke	Spiegelberg
Hering	Petry	Stuke
Heuser	Pfütz	Walcher
Hort	Riecken	Wendt
Ihm	Rohen	

